

Aus der Anatomischen Anstalt,
Lehrstuhl III
Vorstand: Prof.Dr.med.W. Lange

VERHALTEN DER BLUT-HIRN-SCHRANKE
NACH INTRACEREBRALER INJEKTION
DER KRAMPFINDUZIERENDEN AMINOSAUREDERIVATE
IBOTENSAURE UND KAINSAURE

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig - Maximilians - Universität zu München

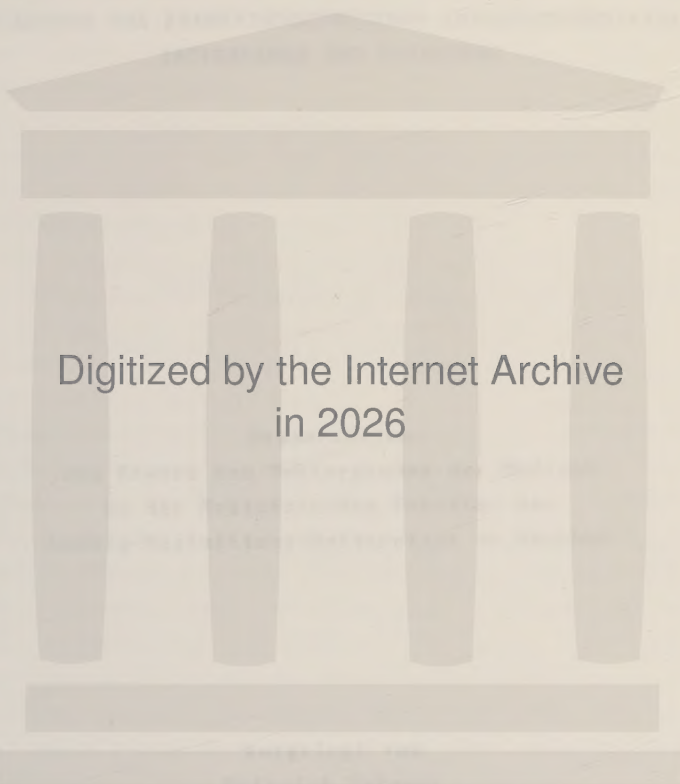
vorgelegt von

Heinrich Hubauer

aus Straubing

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Anatomischen Anstalt,
Lehrstuhl III
Vorstand: Prof. Dr. med. W. Lange

VERHALTEN DER BLUT-HIRN-SCHRANKE NACH INTRACEREBRALER
INJEKTION DER KRAMPFINDUZIERENDEN AMINOSÄUREDERIVATE
IBOTENSÄURE UND KAINSAURE

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Heinrich Hubauer

aus
Straubing

1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. C. Nitsch
.....

.....

Mitberichterstatter: 1. Prof. Dr. W. Lange
.....

2. Prof. Dr. A. Baethmann
.....

Mitbetreuung durch
den promovierten
Mitarbeiter:
.....

Dekan: Prof. Dr. W. Spann
.....

Tag der mündlichen
Prüfung: 29.10.1987
.....

DANKSAGUNG

Die hier vorliegende Dissertation entstand vom Frühjahr 1984 bis Frühjahr 1986 in der Anatomischen Anstalt, Lehrstuhl III (Neuroanatomie), der Ludwig-Maximilians-Universität München.

In der mit größtem Engagement geführten Forschungsgruppe von Frau Priv. Doz. Dr. med. C. Nitsch konnte ich die, für die Untersuchungen notwendigen Kenntnisse und Fertigkeiten erlernen.

Frau Nitschs Sachverstand, der sich in ihrer großen internationalen Erfahrung begründet, ihr begeisternder Idealismus und ihre persönliche Art der Menschenführung schaffen ein fruchtbar motivierendes Arbeitsklima, wofür ihr herzlich gedankt sei.

Insbesondere beim Erlernen der elektronenmikroskopischen Aufbereitung des Materials stand mir Herr Dipl. Biol. R. Riesenberg in freundschaftlicher Weise zur Seite. Sein Geschick ist für mich unerreichtes Vorbild geblieben.

Herrn Riesenberg und den übrigen, ungenannten Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern, einschließlich des labortechnischen Personals gilt mein Dank für die kollegiale Mithilfe und freundliche Aufnahme.

Dem Vorstand des Instituts, Herrn Prof. Dr. med. W. Lange möchte ich insbesondere für die bereitwillige zur Verfügungstellung der Gerätschaften danken.

INHALTSANGABE

	Danksagung	I
	Inhaltsangabe	II
0	Zusammenfassung	1
1	Einführung	2
1.1	das Phänomen der Blut-Hirnschranke	2
1.2	der Ort der Blut-Hirnschranke	4
1.3	Eigenschaften der Blut-Hirnschranke	5
1.3.1	Permeationseigenschaften intrakranieller Endothelzellmembranen	5
1.3.2	das Fehlen von transpinocytotischer Aktivität in den cerebralen Kapillarendothelien	7
1.3.3	Kontaktzonen intracerebraler Endothelien	9
1.4	Schrankenöffnungen	10
1.4.1	verschiedene pathologische Zustände führen zu Schrankenöffnungen	11
1.4.2	Nachweis der Blut-Hirnschrankenstörung	11
1.4.3	Mechanismen der Blut-Hirnschrankenstörung	12
1.4.3.1	erhöhte pinocytotische Aktivität der intracerebralen Endothelien	12
1.4.3.2	Öffnung der tight-junctions als mögliche Ursache von Schrankenstörungen	13
1.5	die Verwendung neurotoxischer Aminosäuren im Tierexperiment	14
1.5.1	Kainsäure	14
1.5.2	Ibotensäure	16
1.6	epileptiforme Krämpfe treten gemeinsam mit regionalen Blut-Hirnschrankenstörungen auf	17

2	Material und Methoden	19
2.1	Wahl der Versuchstiere	19
2.2	Injektion der krampfinduzierenden Aminosäuren	19
2.3	Injektion von Evans-Blau und Perfusion mit Fixationslösungen	21
2.4	makroskopische Dokumentation und ultramikroskopische Aufbereitung des Materials	21
3	Ergebnisse	
3.1	makroskopische Resultate	23
3.2	ultramikroskopische Resultate	25
4	Diskussion	28
4.1	Interpretation der überwiegend unilateralen Blut-Hirnschrankenstörungen in limbischen Gebieten	28
4.1.1	toxische Wirkung von Kainsäure Ursache der Schrankenstörungen?	
4.1.2	Bluthochdruck als pathogenetischer Faktor der Blut-Hirnschrankenstörung	29
4.1.3	die Rolle der neuronalen excitatorischen Aktivität im Zusammenhang mit Blut-Hirnschrankenstörungen	30
4.1.4	ist ein bestimmtes Transmittermilieu für die Schrankenfunktion notwendig?	32
4.2	Reversibilität der Schrankenstörungen	34
4.3	Bedeutung der Schrankenstörungen	34
5	Abbildungen	37
6	Literaturverzeichnis	47
	Anlage: Lebenslauf	

0 ZUSAMMENFASSUNG

Untersucht wurde an Ratten die Blut-Hirnschrankenpermeabilität für Proteine nach intrastriataler Injektion der neuroexcitatorischen Aminosäuren Ibotensäure und Kainsäure mit Hilfe von Evans-Blau als Indikator.

Mit Ausnahme einer unspezifischen Schädigung an der Operationsstelle im Cortex, blieb nach Ibotensäuregabe die Blut-Hirnschranke stets intakt, während sich 4 Stunden nach Kainsäureverabreichung umschriebene Schrankenstörungen ipsilateral zur Läsionsseite bevorzugt im Hippocampus fanden.

Dort war die Schrankenöffnung streng auf die Fimbria und das CA₃-Feld begrenzt.

Nur ausnahmsweise war spiegelbildlich auch der contralaterale Hippocampus betroffen.

In einzelnen Tieren war die Blut-Hirnschranke zusätzlich im Striatum, im Pallidum, im Thalamus, im Hypothalamus, in der Area tegmentalis ventralis und in der Amygdala für Proteine durchlässig, wiederum nur auf der linken Operationsseite.

Bei den elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigten einige Gefäßabschnitte im CA₃-Feld des Hippocampus mit Evans-Blau-Austritt eine erhöhte Anzahl pinocytotischer Vesikel, was die Auffassung unterstützt, eine gesteigerte Cytopempsis sei das ultrastrukturelle Korrelat der Blut-Hirnschrankendysfunktion.

Geöffnete interendotheliale Spalten konnten nicht gesichtet werden, die tight-junctions waren intakt.

Möglicherweise könnten Transmittermilieuveränderungen im Bereich der Gefäße, hervorgerufen durch Kainsäure und/oder die von ihr hervorgerufenen Krämpfe eine Induzierung der transendothelialen Pinocytose bewirken und damit verantwortlich für die Blut-Hirnschrankenöffnung sein.

1 EINFÜHRUNG

1.1 das Phänomen der Blut-Hirnschranke

Ausgehend von den am Ende des 19. Jahrhunderts gemachten Beobachtungen, daß bestimmte Stoffe intravenös, per os, subcutan oder intraperitoneal verabreicht ungiftig für das zentrale Nervensystem waren, jedoch die selben Substanzen intracerebral, intraventriculär oder subdural gegeben schwerste neurologische Symptome hervorriefen, war Lewandowsky (1900) einer der ersten, der nach seinen Versuchen mit Ferrocyanatrium die Existenz einer Schranke zwischen Blut und Gehirn postulierte.

Paul Ehrlich führte 1885 die Methode der vitalen Färbung für die Erforschung des Nervensystems ein. Ihm fiel auf, daß die meisten sauren Farbstoffe im Gegensatz zum Großteil der basischen Farbstoffe bei intravenöser Gabe nicht in der Lage waren, das Gehirn und Rückenmark anzufärben.

Ehrlich führte dieses Phänomen auf unterschiedliche Affinitäten des zentralen Nervengewebes für die verschiedenen Farbstoffarten zurück.

Auf diesen Beobachtungen aufbauend machte 1913 Edwin Goldmann, ein Mitarbeiter Paul Ehrlichs, seine historisch gewordenen Versuche.

Im sogenannten ersten Goldmann'schen Versuch wurde verschiedenen Säugetieren, wiederholt im Abstand von wenigen Tagen, der saure Farbstoff Trypanblau intravenös injiziert. Die Tiere zeigten danach für gewöhnlich keine Vergiftungserscheinungen von Seiten des Nervensystems.

Bei der Sektion fand sich makroskopisch, daß Gehirn und Rückenmark ungefärbt geblieben waren, wogegen sich alle anderen Organe und Gewebe mehr oder weniger gut anfärbten.

Im Inneren des Gehirns war lediglich der Plexus chorioideus angefärbt und, bei Hochtreiben der Färbung, fand Goldmann auch die Gehirn und Rückenmarkshäute blaß-blau gefärbt.

Führte er diesen Versuch an trächtigen Tieren durch, blieb auch der Fetus und seine Eihäute frei von Farbstoff, wohingegen die Körperorgane des graviden Tieres und auch die Plazenta koloriert waren.

In seinem zweiten Versuch injizierte Goldmann das Trypanblau in den Subarachnoidalraum. Nun reichten schon geringste Mengen Farbstoff aus, um bei den Tieren schwerste Krämpfe und Anfallssymptome hervorzurufen, worauf der rasche Tod folgte.

Waren jetzt die Körperorgane ungefärbt geblieben, fand sich hierbei eine deutliche Kolorierung des zentralen Nervensystems, insbesondere in den Bereichen, die von der Injektionsstelle nicht zu weit entfernt lagen.

Dieses zweite Experiment zeigte, daß die Hypothese Ehrlichs von der schlechten Affinität des Hirngewebes für saure Farbstoffe nicht richtig sein konnte.

Goldmann selbst zog aus seinen Versuchen zwei wesentliche Folgerungen: zum einen müsse eine Schutzvorrichtung das Eindringen des neurotoxischen Farbstoffes Trypanblau in das Gehirn verhindern, zum anderen müsse diese Schutzvorrichtung im Plexus chorioideus liegen, fußend auf der Beobachtung, daß sich dieses Gebilde als einziges im zentralen Nervensystem gut angefärbt hatte.

Im letzteren glaubte Goldmann eine Analogie zur Plazenta gefunden zu haben: die Plazenta stelle eine Art Filter für das mütterliche Blut dar, den es durchströmen müsse, ehe es den Feten erreiche. Die Plazenta, so Goldmanns irrige Vorstellung, habe das Trypanblau aus dem mütterlichen Blut "gefiltert" und vergleichbares geschehe im Plexus chorioideus.

Immerhin dauerte es etwa zwei Jahrzehnte, bis H. Spatz (1934) diesen Analogieschluß widerlegen konnte. Spatz argumentierte, daß die den Plexus versorgende Arteria chorioidea nur einen sehr kleinen Ast der zahlreichen Gehirngefäße darstelle. Der Plexus chorioideus könne nicht als Filter wirken, weil der weitaus überwiegende Teil des Gehirnblutes mit ihm gar nicht in Berührung komme.



Außerdem konnte Spatz auf die Arbeiten Zands (1930) zurückgreifen, die zeigten, daß auch nach Exstirpation des Plexus das Gehirn gegenüber dem systemisch verabreichten Trypanblau ungefärbt bleibt.

Im Gegensatz zu den Verhältnissen im zentralen Nervensystem meinte Spatz, in seiner noch nicht obsoleten Vorstellung von der Plazenta als Filter, müsse "jeder Tropfen mütterlichen Blutes, der zum Feten gelangen soll, die Plazenta passieren" (zitiert nach Spatz, 1933).

Aus heutiger Sicht betrachtet war dieses letzte, so einleuchtend erscheinende Argument im Kern natürlich völlig falsch, denn tatsächlich tritt physiologischerweise kaum mütterliches Blut zum Feten über.

Dennoch konnte damit Goldmanns Vorstellung vom Sitz der Blut-Hirnschranke im Plexus chorioideus widerlegt werden, womit ein lange verfolgter wissenschaftlicher Irrweg verlassen wurde.

1.2 der Ort der Blut-Hirnschranke

Spatz (1933) war es, der bei seinen Wiederholungen der Goldmannschen Experimente aufgrund unvoreingenommener mikroskopischer Untersuchungen den, im Prinzip heute noch gültigen Vorschlag für die Lokalisation der Blut-Hirnschranke erbringen konnte.

Diese müsse gleichbedeutend sein mit der Innenhaut der intracerebralen Gefäße, also der luminalen Seite des Endothels, genau dort, wo das saure Trypanblau bei intravenöser Gabe zurückgehalten wurde.

Werden dagegen schrankenundurchlässige Substanzen intraventriculär verabreicht, können diese, wie aus späteren ultramikroskopischen Untersuchungen bekannt ist, die abluminale Endothelseite nicht durchdringen (Brightman u. Reese, 1969).

Zusammenfassend läßt sich demnach sagen, daß die Endothelmembranen sowohl von luminal als auch von abluminal den Ort der Blut-Gehirnschranke bilden.

Alle anderen, bis in die sechziger Jahre immer wieder vorgeschlagenen Theorien, in denen der Membrana gliae limitans (Gärtner, 1927) oder der Basalmembran (Niessing u. Rollhäuser, 1954; Leonhardt, 1965) Schrankeneigenschaften zugeschrieben wurden, sind heute weitgehendst verlassen.

1.3 Eigenschaften der Blut-Hirnschranke

1.3.1 Permeationseigenschaften intrakranieller Endothelzellmembranen

Wie bereits erwähnt, beobachtete schon Paul Ehrlich, daß die große Mehrzahl der sauren Farbstoffe bei intravenöser Gabe das Gehirn nicht färben, während die meisten basischen Farben dazu sehr wohl in der Lage sind.

Es ist leicht verständlich, daß die Schrankeneigenschaft der intrakraniellen Blutgefäße nicht absolut sein kann, denn alle nutritiven Substanzen und alle im Gehirn anfallenden sogenannten Stoffwechselabfallprodukte müssen die Barriere überwinden.

Im besonderen durch die Technik der Markierung von Molekülen mit radioaktiven Isotopen (Krogh, 1946) konnte mehr Klarheit über die selektiven Permeationseigenschaften der Blut-Hirnschranke geschaffen werden.

Die intrakraniellen Endothelmembranen unterscheiden sich prinzipiell nicht von anderen biologischen Membranen. Ihr Aufbau entspricht dem fluiden Lipid-Protein-Mosaik-Modell von Singer und Nicholson (1972).

Der Aufbau erlaubt die Diffusion von Molekülen unter einem Molekulargewicht von 1000. Diese passive Stoffpermeabilität steht unter starkem Einfluß der hydrophoben Eigenschaften der jeweiligen Substanzen, was sich durch den Doppelipidaufbau der Membranen erklären läßt.

So sind via Diffusion nur lipidlösliche Stoffe, wie beispielsweise alle Narkotika und Sauerstoff gut permeabel (Meyer u.a., 1959) und deren Aufnahme im Gehirn letztlich nur vom Blutfluß begrenzt (Oldendorf, 1974).

Erleichterte Diffusion, im englischen Sprachraum auch als "facilitated transfer" bezeichnet, wurde an der Blut-Hirnschranke für D-Glucose (Crone, 1965) und für die L-Formen langkettiger und essentieller Aminosäuren (Oldendorf, 1973) nachgewiesen.

Auch für Glutamat, Aspartat und gamma-Aminobuttersäure besteht ein Transportsystem niederer Kapazität, nicht aber für Prolin, Alanin und Glycin (Oldendorf u. Szabo, 1976).

Aufgrund energetischer Phänomene fordert man hierbei die Existenz spezifischer Trägermoleküle, sogenannte "Carrier", die in Verbindung mit dem Permeat eine größere Beweglichkeit in der Membran aufweisen als die durchdringende Substanz allein.

Die beobachtete Sättigung des Transportes ließe sich damit auf die begrenzte Anzahl vorhandener Trägermoleküle zurückführen (nach Stein, 1967).

In welchem Ausmaß energieverbrauchende, aktive Transportvorgänge am Stoffaustausch in den Membranen der Hirngefäßendothelien beteiligt sind muß bis dato offen bleiben.

Jedenfalls spricht das Vorkommen bestimmter Enzyme wie gamma-Glutamyltranspeptidase (Albert u.a., 1966; Meister, 1973) oder Pseudocholinesterase (Joo u. Csillik, 1966), sowie die vergleichsweise zahlreichen Mitochondrien in den Endothelien der cerebralen Gefäße (Wolff, 1963) für das Vorhandensein dieser Transportform.

Schließlich besitzen diese Endothelmembranen wahrscheinlich porenähnliche Kanäle, womit erklärt wäre, daß Wasser und bestimmte andere polare Nichtelektrolyte ungeachtet ihres lipophoben Charakters anscheinend frei zwischen Blut und Gehirngewebe diffundieren können.

Nach Untersuchungen mit hydrophilen Substanzen steigender Molekülgröße glaubt man einen Porenradius von 0,5 nm angeben zu können. Dieser entspricht in etwa dem Radius des Saccharosemoleküls (siehe Bradbury, 1979).

Somit ist ersichtlich, daß die Plasmalemmata der Gehirn- und Rückenmarksendothelien keineswegs absolute Barrieren bilden, sondern im Gegenteil ein gutes Beispiel für einen Ort von lebhaftem Stoffaustausch sind.

Es sind insbesondere die makromolekularen Substanzen, welche die Blut-Hirnschranke nicht überwinden können. Vorwiegend für Proteine ist diese Barriere nicht permeabel.

1.3.2 das Fehlen von transpinocytotischer Aktivität in den cerebralen Kapillarendothelien

Eine weitere, bisher unerwähnt gebliebene Fähigkeit biologischer Membranen ist die Pinocytose, ein analoger Mechanismus der lichtmikroskopisch unter Umständen erkennbaren Phagocytose, das ist die vesikuläre Aufnahme von festen Mikroteilchen.

Pinocytose ist am ehesten elektronenmikroskopisch nachzuweisen. Sie stellt den Übergang her zwischen Phagocytose einerseits und den molekularen Permeationsmechanismen andererseits, denn bei der Pinocytose werden molekular oder kolloidal gelöste Substanzen und damit auch Proteine durch Einstülpung des Plasmalemmes aufgenommen. Aufgrund der nachfolgenden Abschnürung der Zellmembran entstehen kleinste Bläschen, auch Vesikel genannt.

Diese Transportform unterscheidet sich insofern von den molekularen Membranpermeationsmechanismen, daß kleine Volumina der "Außenwelt" zwar in das Zellinnere, nicht aber in das Cytoplasma gelangen. Da sie weiterhin von Plasmalemm als Vesikelwand eingeschlossen sind, handelt es sich nur um eine Verlagerung der physiologischen Membrangrenze von der Oberfläche in das Zellinnere.

Werden diese Bläschen nicht intracellulär aufgelöst, sondern durch das Cytoplasma geschleust, damit sie auf der anderen Seite der Zelle ihren Inhalt extracellulär entleeren können, spricht man von transpinocytotischem Transport oder Cytopempsis.

Die Membranen der entleerten Vesikel werden wieder in das Plasmalemm eingebaut.

Wahrscheinlich ist die Fenestrierung von Endothelien, das heißt die Verdünnung der Endothelzellmembran an zahlreichen Stellen zu einem "Diaphragma", Ausdruck excessiver Cytopempsis (nach Kahle, Leonhardt, Platzer, 1979).

Eine solche Fensterung ist in Organen mit starkem Stofftransport durch die Kapillarwand zu finden, wie zum Beispiel in Darmzotten oder Hormondrüsen.

In den Endothelien des zentralen Nervensystems fehlt diese Fenestrierung völlig.

Diese Bauart des Gehirnendothels ist auch den Kapillaren des Muskels, der Lunge und anderer Organe eigen, hingegen lassen sich dort immerhin relativ zahlreich intracelluläre Vesikel nachweisen.

Dagegen findet unter normalen, physiologischen Bedingungen in den Endothelien der Hirnkapillaren fast kein transpinocytotischer Transport statt (Wolff, 1963; Cervos-Navarro u.a., 1983).

Im übrigen besitzen die Kapillaren des zentralen Nervensystems eine vollständige Basalmembran, ohne Diskontinuitäten, wie man sie in den Endothelien der Lebersinusoiden und in den Nierenglomeruli findet.

So erklärt das Fehlen von Cytopempsis und die Bauweise der intracerebralen Kapillaren ohne Endothelfenestrierung oder echten intracellulären Lücken, daß makromolekulare Substanzen die Endothelien nicht permeieren können.

1.3.3 Kontaktzonen intracerebraler Endothelien

Stoffaustausch zwischen Kapillarlumen und umgebendem Gewebe findet regelhaft nicht nur transzellulär durch die Endothelien, sondern auch zwischen den Zellen, im Extrazellulärraum statt.

Für diesen nicht ganz richtig auch interzellularen "Transport" bezeichneten Mechanismus stehen in nahezu allen Kapillaren mindestens 20 nm weite Lücken offen.

Eine Ausnahme bilden die Zellkontakte intracerebraler Endothelien.

Generell sind tight-junctions immer dort vorhanden, wo Schranken ausgebildet sind: zwischen den Epithelzellen des Plexus chorioideus (=Blut-Liquorschranke), zwischen den Sertolizellen (=Blut-Hodenschranke), zwischen den Alveolarepithelien der Lunge (=Luft-Blutschranke) und in bestimmten Abschnitten des Nephrons (=Blut-Harnschranke).

Bei Wiederholung der Goldmann'schen Versuche auf ultrastruktureller Ebene beobachteten, wie schon oben kurz erwähnt, Brightman und Reese (1969), daß systemisch injiziertes Lanthanumhydroxyd nicht in der Lage war, in oder zwischen das intracerebrale Endothel zu kommen.

Wurde Meerrettich-Peroxydase intraventrikulär appliziert, penetrierte dieses Makromolekül zwar mehr oder weniger ungehindert durch den Extracellulärraum, die perivaskuläre Glia und die Basalmembran, konnte aber die Endothelien auch von der abluminalen Seite nicht durchdringen.

Auch die weitstreckigen interendothelialen Überlappungsstellen, die sogenannten "Clefts" erwiesen sich für die Markierungssubstanz als dicht.

Neben der Bestätigung, daß die Endothelien Sitz der Blut-Hirnschranke sind, wurde nachgewiesen, daß auch in den Zellzwischenräumen funktionell wirksame Strukturen vorhanden sind, die eine Permeation von Makromolekülen verhindern.

Diese Barrieren, zonulae occludentes oder tight-junctions findet man in allen Abschnitten der Hirngefäße, in Arteriolen, Kapillaren und Venolen.

Sie sind heute als Appositionen aufgeklärt worden, die durch Fusion zweier Doppelmembranen in der Art entstehen, daß sich in der Regel zwei invertierte hexagonale Mizellen ausbilden (Pinto da Silva, 1982; Meyer, 1983)

Sie garantieren die Schrankenfunktion zwischen den Endothelien, also die Blut-Hirnschranke.

Die interendothelialen Überlappungsstellen werden im anglo-amerikanischen Sprachraum "Clefts" genannt.

1.4 Schrankenöffnungen

1.4.1 verschiedene pathologische Zustände führen zu Schrankenöffnungen

Es sind mittlerweile zahlreiche pathologische Zustände bekannt, die zu einer erhöhten Durchlässigkeit der Blut-Hirnschranke führen.

Einige seien hier nur kurz erwähnt, wie die gesteigerte Permeabilität bei Infektionen oder Tumoren (Pardrige u.a., 1975), ischämische Läsionen (Klatzo, 1975; Westergaard, 1976), Hyperkapnie (Cutler u. Barlow, 1966; Johansson u. Nilsson, 1977), oder Intoxikationen verschiedener Genese (Pentschew u. Garro, 1966; Laursen u. Westergaard, 1977).

Eine perakute Blutdrucksteigerung läßt die Schranke, wie im Tierexperiment nachgewiesen wurde, ebenfalls zusammenbrechen (Johansson u.a., 1970; Häggendal u.a., 1972; Blomstrand u.a., 1975; Nagy u.a., 1979).

Steigt der Blutdruck nicht so rapide an, könnte das beobachtete Fehlen einer Blut-Hirnschrankenstörung in einigen Phasen der Blutdruckkrise auf Autoregulationsmechanismen zurückgeführt werden.

Denn erst nach Überschreiten einer kritischen Schwelle, die bei den meisten Säugetieren in der Größenordnung von 180-200 mmHg liegt, wird der cerebrale Blutfluß direkt vom Blutdruck abhängig (Strandgaard, 1975; Hernandez, 1978).

Hardebo (1980) konnte zeigen, daß diese erhöhte Schrankendurchlässigkeit reversibel ist.

1.4.2 Nachweis der Blut-Hirnschrankenstörung

Als Indikatoren für die erhöhte Schrankenpermeabilität werden makromolekulare Proteine oder Protein-Farbkomplexe verwendet (Steinwall u. Klatzo, 1966). Dabei geht man in der Regel analog dem ersten Goldmann'schen Versuch vor.

Evans-Blau, welches sich praktisch quantitativ an die Plasmaalbumine zu binden vermag (Wolman u.a., 1981) wird häufig, wie auch in dieser Arbeit, zur makroskopischen oder auch mikroskopischen Beurteilung einer Schrankenöffnung verwendet. Die Diffusion des Plasmaalbumin-Farbstoffes im Gehirngewebe ist so gering, daß auch umschriebene Dysfunktionen der Blut-Hirnbarriere an der regionalen Blaufärbung des Nervengewebes zu erkennen sind.

Zur ultramikroskopischen Untersuchung wird als Indikator meist das Enzymprotein Meerrettich-Peroxidase verwendet, das durch die Diaminobenzidin-Reaktion elektronenmikroskopisch sichtbar gemacht wird (Brightman u. Reese, 1969; Lorenzo, 1975).

Aufgrund der benutzten Markierungssubstanzen wird deutlich, daß damit die erhöhte Permeabilität der Endothelien für makromolekulare Substanzen, entsprechend der Definition der Schranke, erfaßt werden.

Jedoch sollte bedacht werden, daß pathologische Störungen, die zu einer erhöhten Blut-Hirnschrankendurchlässigkeit für niedermolekulare Substanzen führen, mit diesen Methoden unerkant bleiben.

Denkbar wären zum Beispiel ein veränderter aktiver Transport, erhöhte Durchlässigkeit der Endothelmembranen für polare Nichtelektrolyte oder für Ionen.

Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang eine Untersuchung Bolwigs (u.a., 1977), der beim Patienten nach Elektroschocktherapie eine erhöhte Membranpermeabilität für Natrium- und Chloridionen, für Harnstoff und für Thioharnstoff feststellen konnte.

1.4.3 Mechanismen der Blut-Hirnschrankenstörung

1.4.3.1 erhöhte pinocytotische Aktivität der intracerebralen Endothelien

Insbesondere Westergaard (u.a., 1973, 1976) glaubte zeigen zu können, daß bei verschiedenen Arten von Nagern auch unter physiologischen Bedingungen ein geringgradiger vesikulärer Transport von intravenös injizierter Meerrettich-Peroxidase in vereinzelt Arteriolen, Venolen und Kapillaren stattfindet.

Allerdings wies Houthoff (u.a., 1982) nach, daß allein durch systemische Gabe von Peroxidase die pinocytotische Aktivität der Endothelien höher ist als wenn endogene Marker gegeben werden.

Nitsch (1983a), die in ihrer Arbeit mit Krampfgiften bei den Kontrolltieren praktisch die Versuche Westergaards wiederholte, konnte keine nennenswerte Pinocytose des intracerebralen Endothels nach alleiniger Gabe von Meerrettich-Peroxidase feststellen. Sie machte aber den Vorschlag, daß das Enzym eine gewisse Sensibilisierung des Endothels hervorrufen könnte, wodurch unter pathologischen Zuständen, wie epileptischen Krämpfen eine Potenzierung der pinocytotischen Aktivität des Schrankenendothels möglich sei.

Übereinstimmend besteht die Auffassung, daß zumindest unter quantitativen Gesichtspunkten der endotheliale pinocytotische Transport im Gehirn unter Ruhebedingungen zu vernachlässigen ist.

Wie schon angedeutet, ist eine gesteigerte Pinocytoserate des Gehirnendothels nach perakuter, systemischer Blutdruckerhöhung nachgewiesen worden (Westergaard, 1977).

Detailliert nachgewiesen ist auch, daß experimentelle Krämpfe die intracerebrale Cytopempsis zu steigern vermögen (Lorenzo, 1975; Hedley-Whyte u.a., 1977; Nitsch u. Klatzo 1983b, Nitsch u.a., 1986a,b).

Damit kann es als gesichert gelten, daß die Endothelien des zentralen Nervensystems sehr wohl die biologische Potenz zur Pinocytose besitzen.

Da ferner nicht nur Blutdruckerhöhung und die Gabe neurotoxischer Gifte eine erhöhte Pinocytoserate zur Folge haben können, sondern dies auch durch cerebrale Ischämien (Westergaard, 1976) und elektrisch induzierte Cerebralkrämpfe (Westergaard, 1978) hervorgerufen wird, handelt es sich um eine relativ unspezifische, durch verschiedene Pathomechanismen auslösbare Reaktion des Gehirnendothels.

1.4.3.2 Öffnung der tight-junctions als mögliche Ursache von Schrankenstörungen

Ob bei erhöhter Blut-Hirnschrankendurchlässigkeit für Proteine Defekte der tight-junctions eine Rolle spielen ist bis heute ungeklärt.

Manche Autoren argumentieren, daß die bei Schrankenstörungen oftmals gefundene massive Anhäufung von Tracer im Neuropil mit Pinocytose allein nicht erklärt werden könne, da Pinocytose ein relativ träger Prozeß sei, der zudem nur unter normalphysiologischen Bedingungen optimal ablaufen könne (Brightman u.a., 1970; Rapoport, 1976).

So wurde vorgeschlagen, daß Schrankendysfunktionen, wie sie etwa nach Infusion hypertoner Lösungen auftreten, auf Öffnungen der tight-junctions zurückgeführt werden könnten, was eine interendotheliale Passage von Makromolekülen vom Gefäßlumen in den extrazellulären Raum des Gehirns gestatten würde.

Auch konnte demonstriert werden, daß sich Tracer nach tierexperimentell verursachten Hochdruckkrisen zwischen den Endothelspalten findet (z.B. Nagy, 1979).

Jedoch konnten tatsächlich "aufgebrochene" Clefts nicht beobachtet werden, sondern die Markierungssubstanzen schienen meist zwischen intakten tight-junctions zu liegen.

So ist es durchaus vorstellbar, daß einige pinocytotische Bläschen ihren Inhalt zwischen die geschlossenen Endothelspalten entleeren.

Auch fanden Farrell und Shivers (1984) bei ihren Experimenten mit Gefrierbruchpräparaten die zonulae occludentes trotz Blut-Hirnschrankenstörungen intakt.

Inwieweit es allerdings zulässig ist, ausgehend von morphologischen Beobachtungen auf die funktionelle Geschlossenheit der tight-junctions rückzuschließen, sei dahingestellt.

1.5 die Verwendung neurotoxischer Aminosäuren im Tierexperiment

1.5.1 Kainsäure

Kainsäure, die sich aus der Seepflanze *Diogenia simplex* gewinnen läßt, wurde ursprünglich in der japanischen Volksmedizin als Mittel gegen Ascariasis benutzt (Tamura, 1954; Ueno u.a., 1955; Takemoto, 1978).

Nachdem Shinozaki und Konishi (1970) zeigen konnten, daß microiontophoretisch verabreichte Kainsäure an cortikalen Neuronen von Ratten eine starke excitatorische Aktivität hervorrief, war man auf der Suche nach tierexperimentellen Modellen für Erkrankungen des epileptischen Formenkreises einen bedeutenden Schritt weitergekommen. Da man Kainsäure, eine alpha-Aminosäure und Pyrrolidinderivat mit zwei Carboxylgruppen und einer Isopropylseitenkette als ein Struktur analog von Glutamat auffassen kann, lag die Hypothese nahe, Kainsäure reagiere direkt mit Glutamatrezeptoren, wobei ihre excitatorische Potenz die des Glutamats bis zum 200fachen übertreffen kann (Johnston u.a., 1974; Biscoe u.a., 1976; Constantini u. Nistri, 1976).

Seit einigen Jahren sind verschiedene Glutamatrezeptoren bekannt, die durch ihre Kreuzsensitivität für Analoga des Glutamats charakterisiert und benannt werden.

Zur Zeit werden N-methyl-D-aspartat- (NMDA), Quisqualisäure- (QA), 2-amino-4-Phosphonobuttersäure- (APB) und Kainsäurerezeptoren unterschieden (Davies u.a., 1979; Watkins u. Evans, 1981; Koerner u. Cotman, 1981; Slaughter u. Miller, 1981; Evans u.a., 1982; Monaghan u.a., 1983).

Der höchste Gehalt an kainsäuresensitiven L-Glutamatbindungsstellen im Gehirn findet sich im Stratum lucidum des CA₃-Feldes im Hippocampus, in der Region, die von den Moosfasern erreicht wird, welche an den Körnerzellen des Gyrus dentatus ihren Ursprung nehmen (vgl. Ben-Ari, 1985; zur Anatomie des Hippocampus vgl. Abb. 1).

Dort wurden auch hohe Konzentrationen an Glutamat (Nitsch, 1979) und Glutamatimmunreaktionsprodukt (Storm-Mathisen, 1983) gemessen.

Mit schwersten Krämpfen einhergehende intracerebrale Injektionen von Kainsäure führen zu umschriebenen Nervenzellschädigungen (Olney, 1974), wobei die Neurotoxicität ebenfalls von glutamaterger Innervation abhängig zu sein scheint (Köhler, 1978; McGeer, 1978).

Insbesondere die Nervenzellen des limbischen Systems, allen voran die CA₃-Pyramidenzellen des Hippocampus scheinen hoch sensibel für die Kainsäurewirkung zu sein (Ben-Ari, 1980), so daß die Auffassung Nadlers (u.a. 1978, 1981), die cytotoxische Wirkung von Kainsäure sei Resultat der excitatorischen Effekte, naheliegend erscheint.

Dies wurde jedoch von mehreren Autoren in Zweifel gezogen.

Obwohl durch Gabe von antikonvulsiv wirkenden Substanzen wie Diazepam nicht nur die Krämpfe therapierbar sind, sondern auch die Schwere der Neurotoxizität abnimmt (Ben-Ari u.a., 1980), zeigte French (u.a., 1982), daß hinsichtlich zellschädigender und excitatorischer Wirkung von Kainsäure dosisabhängige Unterschiede bestehen: sowohl Mengen, die zu deutlichen Zellnekrosen führen (250 ng), als auch Kainsäuredosen, die unterhalb der neurotoxischen Schwellendosis liegen (50 ng) verursachen nach unilateraler Injektion Krampfpotentiale in beiden Hippocampusformationen.

Außerdem scheinen Läsionen der cortico-striatalen Bahnen Neuronen des Striatums vor den toxischen Schädigungen der Kainsäure zu schützen (McGeer u.a., 1978 ; Biziere u. Coyle, 1979), ohne aber die excitatorischen Effekte von Kainsäure auf striatale Nervenzellen zu beeinflussen (McLennan, 1980).

1.5.2 Ibotensäure

Ibotensäure, ein Gift des Fliegenpilzes *Amanita muscaria* (Eugster, 1968), scheint im Gegensatz zu Kainsäure nach intracerebraler Gabe nur lokal um den Injektionsort neurotoxisch zu wirken (Schwarcz u.a. 1979 a, b).

Bei lokaler intrahippocampaler Verabreichung von Ibotensäure werden die dortigen Nervenzellen nicht selektiv geschädigt und Fernwirkungen, wie sie von Kainsäure bekannt sind, werden nicht festgestellt (Köhler u.a., 1979; Nadler u.a. 1981 b).

Auch ist Ibotensäure weit weniger neuroexcitatorisch wirksam als Kainsäure, obgleich dosisangepaßte intra-striatale Ibotensäuregaben die selben Verhaltensänderungen und Krämpfe hervorrufen, wie sie nach gleichartiger Verabreichung von Kainsäure auftreten.

Wenn auch die präzisen Pathomechanismen der beiden genannten Aminosäurederivate noch nicht im Detail bekannt sind, sowohl was die neuroexcitatorischen als auch die neurotoxischen Komponenten anbelangt, so besteht weitgehend die Auffassung, daß beide Gifte auf unterschiedliche Weise wirken (vgl. Köhler u. Schwarcz, 1983).

Bemerkenswert ist, daß Ibotensäure im Gegensatz zu Kainsäure mit den obengenannten NMDA-Rezeptoren reagiert, die sich, wie die kainsäuresensitiven L-Glutamatrezeptoren bevorzugt im Stratum lucidum des hippocampalen CA₃-Feldes finden, aber auch in den CA₁- und CA₄-Feldern in hoher Anzahl vorhanden sind (Monaghan u.a., 1983).

Bisher ist wenig über das metabolische Schicksal von Ibotensäure nach intracerebraler oder systemischer Injektion bekannt.

Untersuchungen mit Hilfe radioaktiv markierter Ibotensäure oder anderer zweckdienlicher Methoden zur Gewebemarkierung sind gegenwärtig im Falle dieser Aminosäure nicht verfügbar.

Curtis und seine Arbeitsgruppe (1979) hatten postuliert, daß Ibotensäure unter physiologischen Verhältnissen zu Muscimol decarboxyliert wird. Dem haben andere widersprochen (Nistri u.a., 1981).

Überdies ist Muscimol eine neuroinhibitorische Substanz und kann nicht für die Krämpfe verantwortlich gemacht werden.

Nach Aldinio (u.a., 1983) erscheint eine partielle Decarboxylierung von Ibotensäure möglich, wobei aber genügend Originalsubstanz über mindestens 2 Stunden vorhanden bleibt, um die regelmäßig auftretenden Krämpfe auszulösen.

1.6 epileptiforme Krämpfe treten gemeinsam mit regionalen Blut-Hirnschrankenstörungen auf

Epileptiforme Krämpfe sind sehr oft mit einer Dysfunktion der Blut-Hirnschranke vergesellschaftet, vorausgesetzt die Krämpfe führen zu einem deutlich erhöhten systemischen Blutdruck (Bolwig u.a., 1977 a; Johansson u. Nilsson, 1977; Petito, 1977; Westergaard, 1978; Nitsch u. Klatzo, 1983b; Suzuki u.a., 1984).

Nachdem Lorenzo schon 1969 die unterschiedliche Verteilung der Schrankenstörungen erwähnt hatte, waren es Nitsch und Klatzo (1983b), die nach systemischer Injektion verschiedener Krampfgifte nicht nur detailliert die jeweiligen Hirnregionen mit Schrankenstörungen registrierten, sondern auch erkannten, daß das Verteilungsmuster der Schrankenstörung nicht notwendigerweise mit der Höhe des regionalen cerebralen Blutflusses korreliert und daß je nach Art des gegebenen Krampfgiftes auch die Verteilungsmuster der Schrankenstörungen verschieden sind.

Damit mußte sowohl die Pathogenese der Blut-Hirnschrankenstörungen unter dem Gesichtspunkt regionaler neuronaler Faktoren überdacht werden, als auch bei den neurodegenerativen Veränderungen, wie sie nach fortgesetzten epileptiformen Krämpfen bei Tier und Mensch auftreten, müssen Alterationen der Blut-Hirnschranke möglicherweise als Ursache mit in Betracht gezogen werden.

Damit, so scheint es, sind für zwei weitgehend nebeneinander verlaufende Forschungswege erste Berührungspunkte gefunden.

Diese Arbeit will an die Experimente von Nitsch und Klatzo (1983b) anschließen.

Im Vordergrund standen dabei folgende Fragen:

1. kommt es nach intracerebraler, unilateraler Injektion krampfinduzierender Aminosäuren wie Ibotensäure und Kainsäure zu Blut-Hirnschrankenöffnungen, und, falls dies der Fall sein sollte, in welchen Gehirnregionen treten diese bevorzugt auf?
2. sind von diesen Schrankenstörungen beide Hemisphären im selben Ausmaß betroffen?
3. sind die beobachteten Schrankenstörungen reversibel?

Daneben sollten die ultrastrukturellen Untersuchungen Hinweise geben, ob etwaige Schrankenstörungen durch erhöhten transpinocytotischen Transport oder durch Öffnungen der interendothelialen tight-junctions zustande kommen.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Wahl der Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten ausschließlich männliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht von 180-350 g.

Diese Tierrasse wird häufig für neurobiologische Experimente verwendet, wodurch eine gewisse Vergleichbarkeit der Befunde mit vorangegangenen ähnlichen Versuchsreihen gewährleistet sein sollte

Ratten sind einfach zu züchten, so daß eine genügend große Anzahl von reinrassigen Tieren gleichen Geschlechts leicht erhältlich ist.

Ferner sind sie wegen ihrer relativ geringen Größe unproblematisch in der Tierpflege.

Die Wistar-Ratten wurden bei 22⁰ C und natürlichem Hell-Dunkel-Rhythmus in den üblichen, mit Holzspänen ausgestreuten Plexiglasboxen in Kleingruppen von 4-6 Tieren gehalten.

Sie erhielten stets artgerechtes Futter und ausreichend Wasser.

2.2 Injektion der krampfinduzierenden Aminosäuren

Zur Anästhesie wurde jedem Tier präoperativ 10 ml/kg 3,5%-ige Chloralhydratlösung intraperitoneal verabreicht.

Diese Narkosemethode erwies sich für die Tiere als schonend und relativ einfach zu handhaben.

Bisweilen mußten geringe Mengen der Chloralhydratlösung nachgespritzt werden.

In tiefer Narkose wurden den Ratten über der Kalotte die Haare abrasiert und der Kopf in ein David-Kopf-Gestell eingespannt.

Nach sagittalem Schnitt der Kopfhaut entlang der Pfeilnaht wurde unter Zuhilfenahme der Bregmanht oder des intraauralen Nullpunktes als Orientierungspunkte die Injektionsstelle im linken anterioren Striatum festgelegt.

Für die Tiere unter 200 g Körpergewicht dienten die Koordinaten von König & Klippel (1963) (AP: +7,5 mm; lateral: 2.6 mm und Tiefe unter der Dura: 4,0 mm).

Bei schwereren Ratten wurden die Angaben von Pellegrino (u.a., 1979) (AP: +8,0 mm; lateral: 2.6 mm und Tiefe unter der Dura: 4.5 mm) für die Erschließung des Injektionsortes verwendet.

Der knöcherne Schädel wurde aufgebohrt und die Dura durchstoßen. Etwaige Blutungen an der Operationsstelle versorgte man mit Hämostypticum und Wattetupfern.

Dann wurde die Hamilton- Mikroinjektionsnadel transkortikal in das linke Striatum vorgeschoben.

Die Injection von 2 µg Kainsäure (Sigma) bzw. 20 µg Ibottensäure (Sigma) jeweils gelöst in 1 µl 0,13 M-Phosphatpuffer erfolgte über 5 min.

Danach wurde die Nadel mindestens 2 min. ruhend in situ gelassen, um Verteilungsstörungen der Injektionslösung beim Herausziehen der Kanüle zu vermeiden.

Anschließend entfernte man die Nadel vorsichtig aus dem Gehirn und verschloß die Operationsstelle mit Wundklammern.

Sepsis verursachende Wundinfektionen waren aufgrund der kurzen Überlebenszeiten nicht zu befürchten.

Nachdem die Tiere von der Narkose erwacht waren, zeigten sie gehäuft Drehbewegungen nach rechts.

Die Krämpfe begannen 2 Stunden nach der Operation und waren nach 3-4 Stunden am heftigsten.

Später ebnete die Krampfneigung ab, wobei aber im Falle von Kainsäure auch noch einen Tag nach der Operation Krämpfe durch Erschütterung und durch laute Geräusche auslösbar waren.

2.3 Injektion von Evans-Blau und Perfusion mit Fixationslösungen

Nach 3 Stunden, 23 Stunden und nach 2 Tagen wurde 0,6 ml Evans-Blau-Lösung (Evans-Blau 2 % in 0,9 % NaCl-Lösung) in die Schwanzvene injiziert. Der Erfolg der Indikatorinfusion konnte gut am sofortigen Wechsel der Augenfarbe des Tieres von rot in dunkelblau kontrolliert werden. Eine Stunde später wurden die Ratten erneut mit Chloralhydratlösung anästhesiert, der Thorax eröffnet und die Bauchaoorta abgeklemmt, damit der größte Teil der Fixationslösungen in den Kopf gelangte.

Nach Kanulierung des linken Herzventrikels begann die Perfusion mit wenigen Millilitern physiologischer Kochsalzlösung, gefolgt von 300 ml Fixativ I (4% Paraformaldehyd- und 0,2% Glutaraldehydlösung in 0,1 M Phosphatpuffer, pH 7,4).

Unmittelbar danach wurde mit Fixativ II (wie Fixativ I, jedoch ohne Glutaraldehyd) nachperfundiert.

Das Präparat wurde noch mindestens 45 min. ruhengelassen, dann mittels einer Knochenzange die Kalotte breit eröffnet und das Gehirn in toto entfernt.

2.4 makroskopische Dokumentation und ultramikroskopische Aufbereitung des Materials

Nach Betrachtung und Dokumentation der Gehirnoberflächen mit Hilfe eines Fotomakroskops (Wild) wurde das Gehirn durch Frontalschnitte in ca. 0,5 mm dünne Scheiben geschnitten und photographiert.

Zur ultramikroskopischen Aufbereitung des Materials wurde der Hippocampus in Scheiben perpendicular zur Längsachse zerlegt, unterteilt in Regio superior und Regio inferior (siehe Abb. 1 für Nomenklatur) und anschließend mit 2%-iger Osmiumtetroxydlösung (OsO_4 in 0,1 M-Phosphat-Puffer, 8% Glucose) nachfixiert.

Nach dreistündiger Einwirkzeit der Lösung in verschlossenen Laborgläschen bei 5⁰ C wurde das Gewebe mit Waschlösung (0,14-M-Phosphat-Puffer, 7% Glucose) von überflüssigem Osmiumtetroxyd gereinigt sowie mittels Alkohollösungen langsam steigender Konzentrationen (25% bis Alkohol absol.) und mit reinem Aceton entwässert. Danach wurden die Gehirnstückchen 12 Stunden in einem Schüttler mit einem Araldit-Acetongemisch 1:1 inkubiert, entgast und dann mit reinem Araldit in die üblichen Plastikformen eingebettet.

Im Niederdruck-Trockenschrank konnte das Araldit 24 Stunden bei 45⁰ C und 48 Stunden bei 60⁰ C aushärten. Die so erhaltenen Blöckchen wurden vorsichtig mit einer Rasterklinge getrimmt und mit einem Ultramikrotom (Reichert) geschnitten.

Zunächst fertigte man 0,5 µm dicke Semidünnschnitte an, die auf Objektträgern mit 1%-iger Toluidinblau-Lösung angefärbt wurden.

Durch die mikroskopische Beurteilung dieser Schnitte konnten geeignete Stellen für die elektronenmikroskopische Untersuchung ausgewählt werden.

Die dazu notwendigen Ultradünnschnitte wurden zu einem Großteil mit selbstgefertigten Glasmessern (knife-maker), zu einem geringeren Teil mit einem Diamantmesser (Diatome) geschnitten.

Diese Schnitte wurden auf Nickelnetzchen (300 Maschen) aufgefangen, 12 min. mit 2,5%-iger Uranylacetatlösung und 3 min mit 2,6%iger Bleinitratlösung kontrastiert.

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen stand ein Elmiskop I (Siemens) zur Verfügung.

3 ERGEBNISSE

3.1 makroskopische Resultate (*)

Die Experimente sind, mit Ausnahme der elektronenmikroskopischen Aufbereitung und Untersuchung des Materials, ohne größeren technischen Apparatenaufwand durchführbar und verhältnismäßig einfach nachzuvollziehen.

Mit hoher Regelmäßigkeit konnten die Resultate verifiziert werden, traten Unterschiede auf, so sind diese leicht mit den bekannten biologischen Schwankungen erklärbar.

Bei allen verwendeten Ratten war die Cortexoberfläche zirkulär um den Injektionspunkt blau angefärbt. Die kreisrunde Markierung wies einen Durchmesser von 2,0-2,5 mm auf (Abb. 2.1).

Ein Frontalschnitt, der die ganze Länge des Injektionskanals sichtbar machte, offenbarte, daß diese Blut-Hirnschrankenstörung auf den Cortex begrenzt war und niemals das Striatum erreichte (Abb. 2.2).

Daraus ist zu schließen, daß die durch den Injektionsnadelstich hervorgerufene mechanische Zerstörung der Blut-Hirnschranke drei Stunden nach der Operation wieder repariert ist, da andernfalls der ganze Stichkanal mantelförmig von blau angefärbten Hirngewebe eingescheldet sein müßte.

Die kortikale Schrankendysfunktion dürfte die Folge eines postoperativen Gehirnödems sein, wie es bei der Eröffnung des darüberliegenden Schädeldaches entsteht (Klatzo, 1977).

Ansonsten waren die Gehirnoberflächen ungefärbt, mit Ausnahme des Infundibulums und der Epiphyse (Abb. 2.1).

Letztgenannte Gehirnteile werden zu den sogenannten zirkumventrikulären Organen gerechnet (Rachmanow, 1925), wo sich physiologischerweise keine Blut-Hirnschranke findet.

(*) die regionale Verteilung der Schrankenstörungen ist in der Tabelle auf Seite 25 aufgelistet.

Versuchstier	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Perfusion post operationem	4h	4h	4h	4h	4h	4h	4h	4h	4h	4h	24h
Striatum	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-
Pallidum	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Area tegment. ventralis	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hypothalamus	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amygdala	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Hippocampus reg. inf.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hippocampus contralat.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Tabelle: regionale Verteilung der Blut-Hirnschrankenöffnung bei Versuchstieren während Kalnsäurekrämpfen

Somit stand auf einen Blick ein gutes Indiz für die Zuverlässigkeit der Methode zur Verfügung.

Kein einziges der drei mit Ibotensäure behandelten Rattengehirne zeigte eine durch Evans-Blau markierte Schrankenöffnung im Striatum.

Auch alle anderen Hirnregionen waren, von den oben beschriebenen Ausnahmen abgesehen, ungefärbt geblieben, obwohl die Tiere schwere Krämpfe zeigten und von sogenannten "wet dog shakes" (Sperk u.a., 1983) befallen waren.

Bei den Versuchen mit Kainsäure zeigten 10 von 15 Rattengehirnen nach einer 4-stündigen Überlebenszeit der Versuchstiere Störungen in der Blut-Hirnschrankenfunktion, die in der Regel auf die Läsionsseite beschränkt waren.

Bei allen 10 Ratten, welche nach 4 Stunden überhaupt eine Schrankenöffnung aufwiesen, waren Teile des Hippocampus blau angefärbt.

Ohne Ausnahme war dabei das Fimbriagebiet und/oder das CA₃-Feld betroffen (Abb. 2.4), wogegen niemals im CA₁-Feld oder der Area dentata Marker vorhanden war.

Mit großer Regelmäßigkeit traten die Blut-Hirnschrankenstörungen streng unilateral, auf der Seite der Operationsläsion auf.

Lediglich bei einem Tier mit einem stark vergrößerten linken Seitenventrikel wurde der Hippocampus beider Gehirnhälften von einer Schrankenöffnung betroffen, wobei auf jeder Seite wiederum nur das CA₃-Feld mit Evans-Blau gefärbt war (Abb. 2.5).

In diesem einen Fall wurde auch eine punktförmige Markierung des Thalamus auf der Operationsseite festgestellt.

Bei insgesamt 5 Gehirnen war eine Färbung des Striatums zu sehen, die aber stets etwas vom Injektionskanal entfernt gelegen war, niemals aber in dessen unmittelbarer Nachbarschaft.

In 4 Fällen war im Pallidum eine Evans-Blauextravasation festzustellen.

Bei einem Versuchstier war die Blut-Hirnschranke im Hypothalamus für den Tracer durchlässig, zusätzlich fand sich eine punktförmige Blaufärbung wiederum ipsilateral zur Läsion in der Area tegmentalis ventralis dorsomedial der Substantia nigra.

In einem Fall war die Amygdala betroffen.

Nach einer Überlebenszeit von einem Tag zeigte nur eines von drei Tieren eine Schrankenstörung, die bilateral auf die CA₃-Felder des Hippocampus begrenzt war.

Allerdings fanden sich in diesem Fall umschriebene Blutungen der Fimbria, so daß hier ein vollständiges Zerreißen des Gefäßendothels mit irreversibler Schrankenöffnung für den Evans-Blau Austritt verantwortlich sein könnte (Abb.2.6).

Alle Tiere, die für eine zweitägige Überlebenszeit vorgesehen waren starben, von einer Ausnahme abgesehen, vor dem erforderlichen Zeitraum.

Das Tier, das die Operation 2 Tage überlebt hatte zeigte abgesehen von der Injektionsläsion im linken Cortex keine Blut-Hirnschrankenstörung.

Auf weitere Experimente mit längerdauernden Überlebenszeiten wurde verzichtet.

3.2 ultramikroskopische Resultate

Die elektronenmikroskopische Untersuchung des Materials wurde auf die verschiedenen Regionen des Hippocampus begrenzt, da in diesen Gebieten makroskopisch die massivsten Öffnungen der Blut-Hirnschranke mit der Evans-Blau Methode festgestellt wurden.

Das Interesse galt schwerpunktmäßig erstens der Frage, ob die interendothelialen tight-junctions elektronenmikroskopisch sichtbar defekt waren.

Zweitens wurde der Anzahl pinocytotischer Vesikel in den Gefäßendothelien erhöhte Aufmerksamkeit geschenkt.

Letzteres geschah in Analogie zu dem wiederholt gezeigten Befund eines erhöhten pinocytotischen Transports von Albuminen wie Meerrettich-Peroxidase während epileptogener Krämpfe (Westergaard, 1978; Nitsch, 1986a), eingedenk der begrenzteren Aussagekraft der jetzt angewandten Methode ohne Tracer.

Die Gefäße des Hippocampus, Äste im Versorgungsbereich der A. chorioidea anterior sind relativ großlumig, die Gefäßwände erscheinen in der Regel abgeflacht.

Die weiträumig gestreckten Endothelzellen mit folglich wenig interendothelialen Spalten waren im Verhältnis zu anderen Gehirngefäßen meist nur von äußerst dünnen glatten Muskelzellen umgeben, so daß ein Großteil der Gefäße als weitlumige Kapillaren bzw. postkapilläre Venolen klassifiziert wurde (Abb. 3.1)

Die Basalmembran zeigt sich in variabler Stärke, ist jedoch nicht von Diskontinuitäten unterbrochen.

In dieser Schicht waren selten Zellen mit großem Nukleus und ausgeprägten Golgi-Membranen auszumachen, wobei es sich am ehesten um Pericyten, gefäßwandständige Histio-cyten handeln dürfte.

Um die eigentliche Gefäßwand waren regelhaft die Astrogliafortsätze zu finden.

Alle von Evans-Blau nicht angefärbten Hippocampusgebiete wiesen den von Hedley-White (u.a., 1977) beschriebenen Mangel an cytopemptischen Bläschen auf (Abb. 3.2).

Ein gesteigerter pinocytotischer Transport zeigte sich nur in den Hippocampusgebieten, wo auch der makroskopische Befund auf eine Blut-Hirnschrankenstörung hindeutete.

Dabei war vorwiegend in Arteriolen eine deutlich erhöhte Cytopempsisrate auszumachen, in Kapillaren und Venolen konnten keine eindeutigen Befunde erhoben werden (Abb. 3.3; 3.4).

Diese gefäßtypische Verteilung der gesteigerten Vesikelanzahl entspricht den Beobachtungen aus früheren Studien (Westergaard u.a., 1978; Petito u. Levy, 1980).

Ein geringer Anteil der cytopemptischen Bläschen wies im elektronenmikroskopischen Bild eine besonders dicke Vesikelwand auf. Es handelt sich dabei um sogenannte "coated vesicles", die eine besondere Rolle im Umbau cytoplasmatischer Membranen einnehmen sollen (Kanaseki u. Kadota, 1969).

Pinocytotische Vesikel konnten auch im Bereich der "Clefts" gesichtet werden, wo sie ihren Inhalt zwischen die tight-junctions zu entleeren schienen (Abb. 3.4).

Dagegen konnte trotz intensiven Suchens an keiner Stelle eine durchgehende Öffnung der interendothelialen Spalten festgestellt werden.

Stets blieben benügend tight-junctions zwischen luminaler und abluminaler Endothelseite intakt, was ein Aufbrechen der Clefts verhinderte.

Dies trifft sowohl auf Evans-Blau markierte, als auch auf nicht angefärbte Hippocampusgebiete zu (Abb. 3.2; 3.3; 3.4).

4 DISKUSSION

4.1 Interpretation der überwiegend unilateralen Blut-Hirnschrankenstörungen in limbischen Gebieten

4.1.1 toxische Wirkung von Kainsäure Ursache der Schrankenstörungen?

Die regionale Verteilung der Blut-Hirnschrankendysfunktion nach systemischer Gabe von Kainsäure wurde als erstes von Nitsch und Klatzo (1983b) detailliert beschrieben und inzwischen von anderen Autoren bestätigt (z.B. Ruth, 1984).

Nach intrastriataler Gabe der neurotoxischen Aminosäure fand sich im Gegensatz zu diesen früher erhobenen Befunden ein wesentlicher Unterschied: die Schrankenöffnungen traten regelmäßig unilateral, in der Operationshemisphäre auf.

Dies legt möglicherweise zunächst den Gedanken nahe, Kainsäure könnte durch direkt toxische Wirkung die Schrankenstörung verursachen, zumal Zacec und seine Mitarbeiter (1980) gezeigt haben, daß sich Kainsäure unter physiologischen Bedingungen als relativ metabolisch inert erweist und nach intracerebraler Injektion weit zu diffundieren vermag.

Es wäre demnach vorstellbar, daß die Kainsäure am ehesten die Läsionsseite erfaßt, ehe das Krampfgift die kontralaterale Seite erreicht.

Gegen diese Interpretation eines direkten toxischen Effekts, der zu den Schrankenstörungen führt, sprechen die lokalen Konzentrationsverhältnisse im Gehirn.

Da von annähernd idealen Bedingungen einer spärlichen Diffusion ausgegangen werden kann, nimmt der Gehalt an Kainsäure im Gehirngewebe mit der dritten Potenz des Entfernungsradius vom Injektionsort ab, was bedeutet, daß schon in geringsten Abständen von der Einspritzstelle nur noch sehr kleine Konzentrationen an Krampfgift zu finden sind.

Gerade dort aber, wo sich am meisten excitatorische Substanz befindet, nämlich am Injektionspunkt selbst, fand sich in keinem Fall eine Schrankenstörung.

4.1.2 Bluthochdruck als pathogenetischer Faktor der Blut-Hirnschrankenstörung

Mehrere Studien haben überzeugend gezeigt, daß unter vielen Versuchsbedingungen der Erhöhung des systemischen Blutdruckes eine pathogenetische Schlüsselrolle bei der Entstehung von Blut-Hirnschrankenstörungen zukommt (Heggendal u. Johansson, 1972; Johansson u. Nilsson, 1977; Bolwig u.a., 1977).

Die Wandspannung T der Gehirngefäße soll dabei die für eine Schrankenöffnung kritische Größe sein. Diese ist gemäß dem Laplace'schen Gesetz vom transmuralen Druck P' ($P' = \text{Blutdruck im Gefäß minus Umgebungsdruck}$) und vom Gefäßradius r direkt proportional abhängig ($T = P' \cdot r$). Bei peripherer Blutdrucksteigerung soll nicht nur der transmurale Druck ansteigen, sondern es soll infolgedessen zu einer Dehnung der Endothelien und damit zu einer Gefäßquerschnittsvergrößerung kommen, was die Wandspannung rasch ansteigen ließe und schließlich zum Bruch der interendothelialen tight-junctions führen könnte.

Auch was die Blut-Hirnschrankenstörungen während epileptiformer Krämpfe betrifft, wurde ein Ansteigen des mittleren arteriellen Druckes wiederholt als eine notwendige Voraussetzung erkannt (Bolwig, 1977; Petito, 1977; Nitsch u. Klatzo, 1983b; Suzuki u.a., 1984).

Indes sind- worauf bei der Diskussion der elektronenmikroskopischen Befunde zurückzukommen sein wird- die ultrastrukturellen Mechanismen der Schrankenstörungen keineswegs notwendigerweise mit einer Öffnung der tight-junctions verknüpft und Dinsdale (u.a., 1974) wies darauf hin, daß bei Schrankenstörungen infolge Bluthochdrucks eher mit einer Vasokonstriktion denn mit einer Vasodilatation zu rechnen ist.

Allerdings haben diese autoregulativen Vorgänge ihre physiologischen Grenzen.

Vor allem aber kann sich im Falle von epileptischen Krämpfen der Blutfluß regional verdrei- bis vervierfachen, ohne daß es dort zu einer Schädigung der Blut-Hirnschranke kommt.

Die lokal differenzierte drei- bis fünffache Erhöhung des Blutflusses korreliert nicht mit der Lokalisation des Markerfarbstoffaustritts im Gewebe (Nitsch u.a., 1985).

Die daraus gewonnene Auffassung, daß eine Erhöhung des peripheren Blutdrucks allein keine ausreichende Erklärung für die Schrankendysfunktion darstellt, wird durch diese Untersuchung unterstützt.

Von einer solchen Druckerhöhung sind beide Gehirnhälften gleichermaßen betroffen, die Schrankenöffnungen jedoch fanden sich, wie erwähnt, mit großer Regelmäßigkeit nur auf der Läsionsseite und waren dort hoch spezifisch auf umschriebene Gehirnregionen begrenzt.

4.1.3 die Rolle der neuronalen excitatorischen Aktivität im Zusammenhang mit Blut-Hirnschrankenstörungen

Das Phänomen der Blut-Hirnschrankenöffnung während experimenteller Krämpfe ist schon seit etwa 30 Jahren bekannt und wiederholt untersucht worden (Bauer u. Leonhardt, 1955 u. 1956; Lee u. Olszewski, 1961; Lending u.a., 1959; Lorenzo u.a., 1967 u. 1972).

Welchen Einfluß dabei die excitatorische neuronale Aktivität direkt auf die Schrankendysfunktion ausübt, bleibt bis heute spekulativ.

Lange Zeit glaubte man, die Blut-Hirnschrankenstörung hänge ausschließlich von der mit den Krämpfen einhergehenden Zunahme des intracerebralen Blutdrucks ab (Bolwig u.a., 1977; Johansson u. Nilsson, 1977; Petito u.a., 1977; Westergaard, 1978).

Mit dieser Erklärung konnte man sich nicht mehr zufrieden geben, seit Nitsch und Klatzo (1983b) gezeigt hatten, daß zwar eine Erhöhung des intracerebralen Blutflusses eine notwendige Voraussetzung für krampfinduzierende Schrankenstörungen darstellt, daß aber die anatomische Lokalisation der Schrankenstörungen differieren, abhängig davon, ob sie durch Hypertonie per se oder durch epileptiforme Krämpfe hervorgerufen werden.

Auch war die regionale Verteilung der Schrankenstörung je nach verwendetem Krampfgift verschieden, wenn auch kein Zusammenhang zwischen Wirkungsmechanismus der verwendeten neuroexcitatorischen Aminosäuren und den Lokalisationen der Schrankenöffnungen erkennbar waren (Nitsch, 1983a).

Auch Sztriha (u.a., 1985), der Schrankenöffnungen nach intraperitonealer Kainsäureinjektion vorwiegend in limbisch abhängigen Hirngebieten fand, interpretierte die Evans-Blauextravasationen als Folge der intensiven neuronalen Aktivität im Hippocampus, dem Hirngebiet, das 4 Stunden nach intracerebraler Kainsäuregabe am stärksten von histologischen Veränderungen betroffen ist (Schwob u.a., 1980).

Selbst bei Schrankenstörungen, die durch alleinige Erhöhung des systemischen Blutdrucks hervorgerufen werden, ist von einer neuronalen Modifikation der Blut-Hirnschrankenöffnungen berichtet worden (Johansson u. Auer, 1983).

Die in dieser Arbeit gemachten Beobachtungen einer überwiegend unilateralen Schrankenstörung vorwiegend im Hippocampus, lassen einen direkten Zusammenhang zwischen Excitation und Schrankenalteration diskussionswürdig erscheinen.

Der seltene Befund einer Evans-Blauanfärbung zusätzlich im gegenseitigen Ammonshorn ist möglicherweise durch das Phänomen eines "mirror-focus" erklärbar.

Gegen diese These spricht, daß keines der mit Ibotensäure behandelten Tiere eine Schrankenöffnung zeigten, obwohl die Tiere von schwersten Krämpfen befallen waren.

Auch bei den Kainsäuretieren war das Auftreten von Konvulsionen nicht unbedingt mit Schrankenstörungen gekoppelt, was gut mit den Erfahrungen nach systemischer Kainsäuregabe übereinstimmt (Nitsch u. Klatzo, 1983b; Ruth, 1984; Sztriha, 1985).

So bleiben die präzisen Mechanismen der Blut-Hirnschrankenöffnungen nach Gabe neuroexcitatorischer Aminosäuren weiterhin unaufgeklärt.

Wahrscheinlich kommt es zu einem Zusammenspiel der diskutierten Faktoren und vielleicht noch unbekannten Parametern, die zu den mit einiger Konstanz auftretenden Ergebnissen führen.

4.1.4 ist ein bestimmtes Transmittermilieu für die Schrankenfunktion notwendig?

Eine Öffnung der interendothelialen tight-junctions war elektronenmikroskopisch nicht aufzufinden, insbesondere auch in den Hippocampusgebieten nicht, wo ein deutlicher Evans-Blau-Austritt stattgefunden hatte.

Eine fokale, örtlich streng begrenzte Öffnung der Clefts ist damit aber keinesfalls ausgeschlossen, da sich solche umschriebenen Alterationen in Ultradünnschnitten nur schwer auffinden lassen, worauf Nagy (u.a., 1979) mit Recht hingewiesen hat.

Es ist bis heute nicht geklärt, welche Regulationsmechanismen einerseits das weitgehende Fehlen einer intracerebralen Pinocytose im physiologischen Normalzustand erklären und wodurch andererseits unter pathologischen Zuständen die gesteigerte Cytopempsisrate des Gehirnendothels induziert wird.

Verschiedene Befunde deuten darauf hin, daß die Pinocytose im zentralen Nervensystem vielleicht durch Neurotransmitter reguliert wird.

Es konnten an Endothelien Rezeptoren für Histamin (Karnushina u.a., 1980), gamma-Aminobuttersäure (Krause u.a., 1980) und wahrscheinlich für die Substanz P (Edvinsson u. Uddman, 1982) nachgewiesen werden.

Auch ist dies für Serotonin gelungen (Edvinsson u.a., 1978), wobei Westergaard (1980) nach Gabe dieses Transmitters eine erhöhte pinocytotische Aktivität feststellte.

Chapman (u.a., 1984) untersuchte in Rattengehirnen Transmitterveränderungen in Cortex, Cerebellum und Hippocampus nach Gabe von verschiedenen neuroexcitatorischen Giften.

Nach kainsäureinduzierten Krämpfen war mit Ausnahme eines Glutaminabfalls im Cortex lediglich der Hippocampus von Veränderungen im Gehalt der gemessenen Neurotransmitteramino-säuren betroffen: neben eines Abfalls an Aspartat, Glutamat, Glutamin und Taurin fand sich ein signifikanter Anstieg an gamma-Aminobuttersäure (GABA). Somit könnte man spekulieren, daß ein bestimmtes Transmittermilieu zur Unterdrückung der cerebralen Pinocytose notwendig ist.

Ein erhöhter Blutdruck könnte dabei die Rolle eines sensibilisierenden Faktors spielen.

Die in dieser Studie belegte auffällige Sensibilität des Hippocampus für Schrankenstörungen ließe sich gut gemeinsam mit obengenannten Untersuchungen in diese These einordnen, wenn es auch nach heutigem Kenntnisstand nicht möglich ist, einen bestimmten Neurotransmitter für gestörte Schrankenfunktionen verantwortlich zu machen.

Ferner muß innerhalb dieser Vorstellung, von einer transmitterinduzierten gesteigerten Pinocytose offen bleiben, wodurch die hier gefundene Präferenz der Operationshemisphäre zu erklären ist.

Denn nach intrahippocampaler Verabreichung von Kainsäure wurden Transmittergehaltveränderungen, wie beispielsweise der Anstieg von GABA, sowohl auf der Injektionsseite, wie auf der kontralateralen Hippocampushälfte in der selben Größenordnung gemessen (Fonnum u. Walaas, 1978; Schmid u.a., 1980).

4.2 Reversibilität der Schrankenstörungen

Die hier gemachten Beobachtungen scheinen darauf hinzuweisen, daß der Organismus von Ratten in der Lage ist, innerhalb weniger Stunden, zumindest aber nach ein bis zwei Tagen die durch Krämpfe hervorgerufenen Schrankenöffnungen rückgängig zu machen.

Leider konnten keine ausreichenden Daten erhoben werden, die es erlaubten exaktere Angaben über die Dauer der Störungen zu machen, da die Letalität der Tiere infolge der Krämpfe nach wenigen Stunden rapide zunahm, so daß speziell hinsichtlich dieser Frage weitere Untersuchungen notwendig sind.

4.3 Bedeutung der Schrankenstörungen

Ob sich hinter den Blut-Hirnschrankenöffnungen ein phylogenetisch erklärbarer Sinn verbirgt ist noch völlig unklar.

Einerseits ist durchaus vorstellbar, daß etwa die Erhöhung der transsynaptischen Aktivität einen Versuch des Organismus darstellt, die durch die extremen Bedingungen drohenden Schäden in Grenzen zu halten, andererseits ist ein völliges Entgleisen autoregulativer Vorgänge nicht auszuschließen.

Die Arbeitsgruppe um Baethmann (Unterberg u.a., 1984) unterstützt die These, daß die Freisetzung von Kininen im Gehirn während akuter cerebraler Läsionen sekundäre Schäden hervorruft, die durch die gesteigerte Blut-Hirnschrankendysfunktion zustande kommt.

Während Nitsch (1983a) andeutete, daß in Gebieten mit Schrankenstörungen die Gefahr der irreversiblen Nervenschädigungen eher verringert sein könnte, veröffentlichte Zucker (u.a., 1983) gegenteilige Befunde, in denen er Schrankenöffnungen vorwiegend mit fokalen Nekrosen vergesellschaftet fand.

In diesem Zusammenhang sei nochmals auf die Definition des in dieser Arbeit gebrauchten Begriffs der Blut-Hirnschrankenstörung hingewiesen: gemeint ist damit eine reversible erhöhte Durchlässigkeit von Gehirngefäßen für Makromoleküle, wie Proteine. Für Gefäßzerreissungen, d.h. irreversible Schädigungen des Endothels, die mit intracerebralen Blutungen einhergehen, sollten andere Begriffe verwendet werden.

Unglücklicherweise werden im anglo-amerikanischen Sprachgebrauch Wörter wie "blood-brain-barrier dysfunction", "blood-brain-barrier breakdown", "blood-brain-barrier disturbance", u.s.w. oft ohne Erläuterung synonym verwendet, was möglicherweise Mißverständnissen Vorschub leisten könnte.

Es kommt hinzu, daß reversible Schrankendysfunktionen durchaus mit Gefäßzerreißen einhergehen, oder ineinander übergehen können.

Daran ist im besonderen bei Schrankenstörungen mit extrem starken Blutdruckerhöhungen zu denken.

So sieht Suzuki (u.a., 1984) die kritische Grenze der reversiblen Blut-Hirnschrankenöffnung beim Verlust der Blutdruckautoregulation im Gehirn erreicht.

Wie beschrieben fand sich auch bei dieser Versuchsreihe in einem Fall neben einer Schrankenalteration, die durch Evans-Blau markiert war, eine umschriebene Gehirnblutung, so daß hier eine Interpretation als reversible Blut-Hirnschrankenöffnung unwahrscheinlich erschien.

Mehr Klarheit kann vielleicht durch gezielte ultrastrukturelle Untersuchungen erreicht werden, wobei es vorstellbar ist, daß die Erhöhung der Transpinocytoserate das morphologische Korrelat der reversiblen Schrankenstörung darstellt, wohingegen die von manchen Autoren gefundene Öffnung der interendothelialen tight-junctions (Rapoport, 1976; Nagy u.a., 1979) den Beginn einer endgültigen Gefäßschädigung markieren könnte.

5 ABBILDUNGEN

Abb.1 Organisation des Hippocampus (nach Andersen u.a., 1971)

Der Hippocampus, welcher dem Archicortex zuzurechnen ist, liegt medial dem Temporallappen an und wird weitgehend vom Gyrus parahippocampalis überlagert.

Es handelt sich um eine 3-schichtige Rinde (nach Clara, 1941).

Von der Pyramidenzellschicht (stratum pyramidale=sp) steigen die apikalen Dendriten auf in das stratum radiatum (sr) und enden im stratum lacunosum-molekulare (slm).

Bei Clara werden beide Schichten noch zur Molekularschicht zusammengefaßt.

Die basalen Dendriten der Pyramidenzellen reichen in das stratum oriens (so), welches unterfüttert wird von der weißen Substanz des Hippocampus, dem Alveus (A).

Basierend auf cytoarchitektonischen Kriterien wird die Hippocampusformation in 4 Felder eingeteilt, wobei die Felder CA₁ und CA₂ größeren Raum einnehmen.

Das Feld CA₃ läuft aus im Feld CA₄, welches hufeisenförmig umgriffen wird von den Körnerzellen der Area dentata (Ad), die dicht gepackt im stratum granulare (sg) liegen.

Die Übergangszone zwischen dem CA₁ Feld und entorhinalen Cortex (EcX) wird als Subiculum (S) bezeichnet.

Der Hauptteil der afferenten Fasern vom entorhinalen Cortex durchdringt die Fissura obliterated (Fo), wird daher Tractus perforans (Tp) genannt und erreicht die Dendriten der Körnerzellen in der Area dentata (Ad).

Die Axone der Körnerzellen, die sogenannten Moosfasern (M) stehen mit den Pyramidenzellen des Ammonshornfeldes CA₃ in synaptischer Verbindung, die Felder CA₂ und CA₁ werden nicht erreicht.

Die Moosfasern finden sich lediglich im stratum lucidum (sl) direkt oberhalb der Pyramidenzellschicht von CA₃.

Die efferenten Fasern der Pyramidenzellen von CA₃ und CA₄ sammeln sich im Alveus und verlassen über die Fimbria (F) den Hippocampus.

Die Schaffer'schen Kollateralen (Sch) aus den Pyramidenzellen von CA₃ stellen die Verbindungen zu den Dendritenbäumen der CA₁-Pyramidenzellen her.

Wegen der unterschiedlichen Innervation von CA₄/CA₃ und CA₂/CA₁ werden diese auch in Regio superior (R. sup) und Regio inferior (R. inf) unterteilt.

Balken=1mm

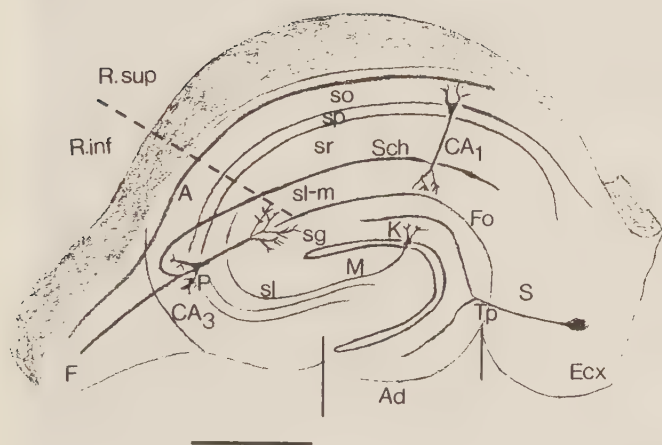


Abb.2.1

Operationsbedingte Zerstörung der Blut-Hirnschranke im Bereich der kortikalen Injektionsstelle, 4 Stunden nach Ibotensäuregabe. Die Epiphyse, die zu den circumventrikulären Organen zählt ist ebenso blau gefärbt, da dort physiologischerweise keine Blut-Hirnschranke vorhanden ist.

Abb.2.2

Die Evans-Blau-Extravasation ist 4 Stunden nach Ibotensäuregabe auf den Bereich um die Injektionsstelle an der Cortexoberfläche begrenzt.

Weder am striatalen Injektionspunkt selbst, noch in anderen Hirngebieten zeigte sich eine spezifische Schrankenöffnung.

Abb.2.3

4 Stunden nach intrastriataler Kainsäuregabe findet sich entfernt vom Injektionspunkt eine ipsilaterale Schrankenöffnung im Striatum und Ncl. accumbens, angezeigt durch kleine perivaskuläre Punkte.

Abb.2.4

Umschriebene Blaufärbung des hippocampalen Fimbria/CA₃-Gebietes, ipsilateral zur Injektionsstelle, 4 Stunden nach striataler Kainsäuregabe.

Abb.2.5

In einem Fall fand sich 4 Stunden nach intrastriataler Kainsäuregabe eine bilaterale Schrankenöffnung der CA₃-Felder des Hippocampus.

Abb.2.6

24 Stunden nach Kainsäuregabe trat in einem Fall eine bilaterale Schrankenöffnung im Fimbria/CA₃-Gebiet auf, die jedoch von Blutungen begleitet war.

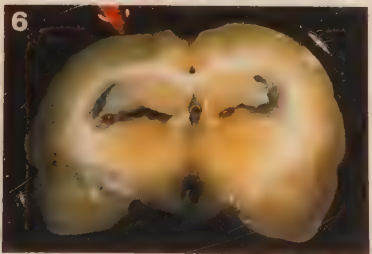


Abb.3.1

Übersichtsbild eines typischen Hippocampusgefäßes

Hippocampus regio superior rechts, 4 Stunden nach Kain-säuregabe

(makroskopischer Befund: keine Evans-Blau-Extravasation).

Weitlumiges Gefäß mit vergleichsweise dünner Gefäßwand.
Keine interendotheliale Spalte.

L=Lumen; E=Endothel; BM=Basalmembran; M=glatte
Muskelzelle; G=(Astro-)Glia; D=Dendrit; B=Bouton;

Balken=1 µm

Abb3.2

Hippocampusgefäß bei stärkerer Vergrößerung

Hippocampus regio superior rechts, 4 Stunden nach
Kainsäuregabe

(makroskopischer Befund: keine Evans-Blau-Extravasation).

Endothelzelle (E) mit normalphysiologischem Mangel an
pinocytotischen Bläschen.

Am rechten Bildrand ein "Cleft" (dicker Pfeil) der durch
intakte tight-junctions dicht geschlossen verbleibt.

Die Basalmembran (BM) ist vollständig, wenn auch von
variabler Stärke.

In dieser Schicht findet sich ein Pericyt (P), ein
gefäßständiger Histiocyt, mit großem Kern (nur zur Hälfte
auf dem Bild) und ausgeprägten Golgimembranen.

Zwei (Astro-) Gliafortsätze (G) stehen weitstreckig mit
gap-junctions (Pfeilspitzen) in Verbindung.

Solche Kontakte dienen dem interzellularen
Stoffaustausch.

L=Lumen; Ax=Axon; B=Bouton; D=Dendrit.

Balken=1 µm



Abb.3.3 u.3.4 gemeinsame Beschreibung

Hippocampus regio inferior, 4 Stunden nach Kainsäuregabe

(makroskopischer Befund: Evans-Blau-Extravasation)

Die interendothelialen Spalten (große Pfeile) erscheinen gegenüber den normalen Verhältnissen unverändert dicht geschlossen.

Im Endothel (E) finden sich zahlreiche pinocytotische Bläschen (kleine Pfeile).

Ein Teil dieser cytopemptischen Vesikel scheint seinen Inhalt im Bereich der Clefts zu entleeren (unteres Bild, kleine Pfeile mit *).

Im unteren Bild ist auch ein sogenanntes "coated vesicle" (kleiner Pfeil mit **) zu sehen.

Die Basalmembranen (BM) sind vollständig, von keinen Diskontinuitäten unterbrochen, jedoch von wechselnder Stärke.

L=Lumen; M=Muskelzelle; G=Lipidvakuole in einem Gliazellfortsatz; My=myelinisiertes Axon.

Balken=jeweils 1 μ m



Literaturverzeichnis:

- Albert, Z.; Orlowski, M.; Rzucidlo, Z.; Orlowska, J.:
Studies on gamma-glutamyl transpeptidase activity and
its histochemical localisation in the central nervous
system of man and different animal species.
Acta Histochem. 25: 312-320 (1966)
- Aldinio, C. French, E.D.; Schwarcz, R.: The effects of
intrahippocampal ibotenic acid and their blockade by
(-)-2-amino-7-phosphohepatonic acid: Morphological
and electroencephalographical analysis.
Exp. Brain Res 51: 36-44 (1983)
- Andersen, P.; Bliss, T.V.P.; Skrede, K.K.: Lamellar
organisation of hippocampal excitatory pathways.
Exp. Brain Res 13: 222-238 (1971)
- Bauer, K.Fr. & Leonhardt, H.: Zur Kenntnis der Blut-Ge-
hinschranke. Cardiazolschock und Schranken zusammen-
bruch.
Arch. Psychiat. Z. Neurol. 193: 68-77 (1955)
- Bauer, K.Fr. & Leonhardt, H.: A contribution to the
pathological physiology of the blood-brain-barrier.
J. Comp. Neur. 106: 363-370 (1956)
- Ben-Ari, Y.; Tremblay, E.; Ottersen, O.P.; Meldrum,
B.S.: The role of epileptic activity in hippocampal
and "remote" cerebral lesions induced by kainic acid.
Brain Res. 191: 79-97 (1980)
- Biscoe, T.J.; Evans, R.H.; Headley, P.M.; Martin, M.R.;
Watkins, J.C.: Structure-activity relations of
excitatory amino acids on frog and rat spinal
neurons.
Br. J. Pharmacol. 58: 373-382 (1976)
- Bizière, K. & Coyle, J.T.: Effects of cortical ablation
on the neurotoxicity and receptor binding of kainic
acid in striatum.
J. Neurosci. Res. 4: 383-389
- Blomstrand, C.; Johansson, B.; Rosengren, B.: Blood-
brain-barrier lesions in acute hypertension in
rabbits after unilateral X-ray exposure of brain.
Acta neuropath. (Berl.) 31: 97-102 (1975)

- Bolwig, T.G.; Hertz, M.M; Paulson, O.B.; Spotoft, H.;
Rafaelsen, O.J.: The permeability of the blood-brain
barrier during electrically induced seizures in man.
Eur. J. Clin. Inv. 7: 87-93 (1977a)
- Bolwig, T.G.; Hertz, M.M.; Westergaard, E.: Acute
hypertension causing blood-brain barrier breakdown
during epileptic seizures.
Acta neurol. scandinav. 56: 335-342 (1977b)
- Bradbury, M.: The concept of a blood-brain barrier.
Wiley & Sons, Chichester (1979)
- Brightman, M.W. & Reese, T.S.: Junctions between
intimately apposed cell membranes in the vertebrate
brain. J. Cell Biol. 40: 648-677 (1969)
- Brightman, M.W.; Klatzo, I.; Olsson, Y.; Reese, T.S.:
The blood-brain barrier to proteins under normal and
pathological conditions.
J. neur. Sci. 10: 215-239 (1970)
- Cervos-Navarro, J.; Artigas, J.; Mrsulja B.J.:
Morphofunctional aspects of the normal and
pathological blood-brain barrier.
Acta Neuropathol. Suppl. (Berl) 7: 1-19 (1983)
- Clara, M.: Das Nervensystem des Menschen.
Johann Ambrosius Verlag (Barth/Leibzig), (1942)
- Chapman, A.G.; Westerberg, E.; Premachandra, M.;
Meldrum, B.S.: Changes in regional neurotransmitter
amino acid levels in rat brain during seizures
induced by L-allylglycine, bicuculline and kainic
acid.
J. Neurochem. (New York) 43.1: 62-70 (1984)
- Constantini, A. & Nistri, A.: A comparative study of the
effects of glutamate and kainate on the lobster
muscle fiber and frog spinal cord.
Br. J. Pharmacol. 57: 359-368 (1976)
- Coyle, J.T.: Neurotoxic action of kainic acid.
J. Neurochem. (New York) 41.1: 1-11 (1983)
- Crone, C.: Facilitated transfer of glucose from blood
into brain tissue.
J. Physiol. (Lond.) 181: 103-113 (1965)

- Curtis, D.R.; Lodge, D.; McLennan, H.: The excitation and depression of spinal neurones by ibotenic acid. *J. Physiol. (Lond.)* 291: 19-28 (1979)
- Cutler, R.W.P. & Barlow, C.F.: The effect of hypercapnia on brain permeability to protein. *Arch. Neurol.* 14: 54-63 (1966)
- Davies, J.; Evans, R.H.; Francis, A.A.; Watkins, J.C.: Excitatory amino acid receptors and synaptic excitation in the mammalian central nervous system. *J. Physiol. (Paris)* 75: 641-644 (1979)
- Davson, H. & Danielli, J.F.: The permeability of natural membranes. University Press Cambridge (1943)
- Dinsdale, H.B.; Robertson, D.M.; Haas, R.A.: Cerebral blood flow in acute hypertension. *Arch. Neurol.* 31: 80-87 (1974)
- Edvinsson, L.; Hardebo, J.E.; Owman, C.: Pharmacological analysis of 5-hydroxytryptamine receptors in isolated intracranial and extracranial vessels of cat and man. *Circ. Res.* 42: 143-151 (1978)
- Edvinsson, L. & Uddman, R.: Immunohistochemical localisation and dilatatory effects of substance P on human cerebral vessels. *Brain Res.* 232: 466-471 (1982)
- Ehrlich, P.: Das Sauerstoff-Bedürfniss des Organismus. Eine farbenanalytische Studie. (1885)
in: Himmelfeit, F. (Ed.): Paul Ehrlich, Gesammelte Arbeiten. Springer- (Berlin, Göttingen, Heidelberg) S. 364-432 (1956)
- Eugster, C.H.: Wirkstoffe aus dem Fliegenpilz. *Naturwissenschaften* 55: 305-313 (1968)
- Evans, R.H.; Francis, A.A.; Jones, A.W.; Smith, D.A.S.; Watkins, J.C.: The effect of a series of omega-phosphonic-alpha-carboxylic amino acids on electrically evoked and excitant amino acid-induced responses in isolated spinal cord preparations. *Br. J. Pharmac.* 75: 65-75 (1982)

- Farrell, C.L. & Shivers, R.R.: Capillary junctions of the rat are not affected by osmotic opening of the blood-brain barrier.
Acta Neuropathol. (Berl.) 63: 179-189 (1984)
- Fonnum, F. & Walaas, I.: The effect of intrahippocampal kainic acid injections and surgical lesions on neurotransmitters in hippocampus and septum.
J. Neurochem. 31: 1173-1181
- French, E.D. Aldinio, C.; Schwarcz, R.: Intrahippocampal kainic acid, seizures and local neuronal degeneration: relationships assessed in unanesthetized rats.
Neurosci. 7: 2525-2536 (1982)
- Gärtner, W.: Die Blut-Liquorschranke.
Z. Biol. 86: 115-139 (1927)
- Goldmann, E.E.: Vitalfärbung am Zentralnervensystem.
Abh. Preuß. Akad. Wiss., Physik.-math. Kl. I: 1-60 (1913)
- Häggendal, E. & Johansson, B.: On the pathophysiology of the increased cerebrovascular permeability in acute arterial hypertension in cats.
Acta neurol. scand. 48: 265-270 (1972)
- Hardebo, J.E.: A time study in rat on the opening and reclosure of the blood-brain barrier after hypertensive or hypertonic insult.
Exp. Neur. 70: 155-166 (1980)
- Hedley-Whyte, E.T.; Lorenzo, A.V.; Hsu, D.W.: Protein transport across cerebral vessels during metrazoleinduced convulsions.
Am. J. Physiol. 233: C74-C85 (1977)
- Hernandez, M.J.; Brennan, R.W.; Bowman, G.S.: Cerebral blood flow autoregulation in the cat.
Stroke 9: 150-155 (1978)
- Houthoff, H.J.; Go, K.G.; Gerrits, P.O.: The mechanisms of blood-brain barrier impairment by hyperosmolar perfusion.
Acta Neuropathol. (Berl.) 56: 99-112 (1982)

Johansson, B.; Li, C.-L.; Olsson, Y.; Klatzo, I.: The effect of acute arterial hypertension of the blood-brain barrier to protein tracers.
Acta Neuropathol. (Berl.) 16: 117-124 (1970)

Johansson, B. & Nilsson, B.: The pathophysiology of the blood-brain barrier dysfunction induced by severe hypercapnia and by epileptic brain activity.
Acta Neuropathol. (Berl.) 38: 153-158 (1977)

Johansson, B. & Auer, L.M.: Neurogenic modification of the vulnerability of the blood-brain barrier during acute hypertension in conscious rats.
Acta Physiol. Scand. 117: 507-511 (1983)

Johnston, G.A.R.; Curtis, D.R.; Davies, J.; McCulloch, R.N.: Spinal interneurone excitation by conformationally restricted analogues of L-glutamic acid.
Nature 248: 804-805 (1974)

Joö, F. & Csillik, B.: Topographic correlation between the hemato-encephalic barrier and the cholinesterase activity of brain capillaries.
Exp. Brain Res. 1: 147-151 (1966)

Kahle, W.; Leonhardt, H.; Platzer, W.: Taschenatlas der Anatomie.
Deutscher Taschenbuch-Verlag (München) 2: 40-41 (1979)

Karnushina, I.L.; Palcios, J.M.; Barbin, G.; Dux, E.; Joö, F.; Schwarcz, J.C.: Studies on capillary-rich fraction isolated from brain: Histaminic components and characterisation of the histamine receptors linked to adenylate cyclase.
J. Neurochem. 34: 1201-1208 (1980)

Klatzo, I.: Pathophysiologic aspects of cerebral ischemia.
in: Tower, D.B (Ed.): The Nervous System
Raven Press (New York) S. 313-322 (1975)

Klatzo, I.: Pathologic aspects of the blood-brain barrier.
in: Roizin, L.; Shiraki, H.; Grecevic (Eds.): Neurotoxicology.
Raven Press (New York) S. 577-584 (1977)

- Köhler, C.; Schwarcz, R.; Fuxe, K.: Perforant path transections protect hippocampal granule cells from kainate lesions.
Neurosci. Lett. 10: 241-246 (1978)
- Köhler, C.; Schwarcz, R.; Fuxe, K.: Hippocampal lesions indicate differences between the excitotoxic properties of acidic amino acids.
Brain Res. 175: 366-371 (1979)
- Köhler, C. & Schwarcz, R.: Comparison of ibotenate and kainate neurotoxicity in rat brain: A histological study.
Neurosci. 8.4: 819-835 (1983)
- König, J.F.R. & Klippel, R.A. (Eds.): The rat brain: A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain system.
William & Wilkins (Baltimore), (1963)
- Koerner, J. & Cotman, C.W.: Micromolar L-2-amino-4-phosphonobutyric acid selectively inhibits perforant path synapses from lateral entorhinal cortex.
Brain Res. 216: 192-198 (1981)
- Krause, D.N.; Wong, E.; Degener, P.; Roberts, E.: GABA receptors in ³bovine cerebral blood vessels: Binding studies with ³H-muscimol.
Brain Res. 185: 51-57 (1980)
- Krogh, A.: The active and passive exchanges of inorganic ions through living membranes generally.
Proc. Roy. Soc. B. 133: 140-200 (1946)
- Laursen, H. & Westergaard, E.: Enhanced permeability to horseradish peroxidase across cerebral vessels in the rat after portocaval anastomosis.
Neuropath. Appl. Neurobiol. 3: 29-43 (1977)
- Lee, J.C. & Olszewski, J.: Increased cerebrovascular permeability after repeated electroshocks.
Neurol. (Minn.) 11: 515-519 (1961)
- Lending, M.; Slobody, L.B.; Mestern, J.: Effect of prolonged convulsions on the blood-cerebrospinal fluid barrier.
Am. J. Physiol. 197: 465-468 (1959)

- Leonhardt, H.: Morphologische Grundlagen der Blut-Hirn-Schranke.
Med. Mschr 19: 438-441 (1965)
- Lewandowsky, M.: Zur Lehre der Cerebrospinalflüssigkeit.
Z. Klin. Med. 40: 480-494 (1900)
- Londgn, E.D. & Coyle, J.T.: Specific binding of (³H)-kainic acid to receptor sites in rat brain.
Mol. Pharmacol. 15: 492-505 (1979)
- Lorenzo, A.V.; Barlow, C.F.³⁵; Roth, L.J.: Effect of metrazol convulsions on ³⁵S entry into cat central nervous system.
Am. J. Physiol. 212: 1277-1287 (1967)
- Lorenzo, A.V.; Shirahige, I.; Liang, M.; Barlow, C.F.: Temporary alteration of cerebrovascular permeability to plasma protein during drug-induced seizures.
Am. J. Physiol. 223: 268-277 (1972)
- Lorenzo, A.V.; Hedley-Whyte, E.T.; Eisenberg, H.M.; Hsu, D.W.: Increased penetration of horseradish peroxidase across the blood-brain barrier induced by Metrazol seizures.
Brain Res. 88: 136-140 (1975)
- McGeer, E.G.; McGeer, P.L.; Singh, K.: Kainate-induced degeneration of neostriatal neurons: Dependency on cortico-striatal tract.
Brain Res. 139: 381-383 (1978a)
- McGeer, E.G.; Olney, J.W.; McGeer, P.L. (Eds.): Kainic acid as a tool in neurobiology.
Raven Press (New York), (1978b)
- McLennan, H.: The effect of decortication on excitatory amino acid sensitivity on striatal neurons.
Neurosci. Lett. 18: 313-316 (1980)
- Meister, A.: On the enzymology of amino acid transport.
Science 180: 33-39 (1973)
- Meyer, H.W.: Tight junctions strands are lipidic cylinders
Naturwissenschaften 70: 251-252 (1983)

- Meyer, S.R. & Gotoh, F.: Cerebral metabolism during epileptic seizures in man.
Amer. neurol. Ass. 90: 23-29 (1965)
- Monaghan, D.T.; Holets, V.R.; Toy, D.W.; Cotman, C.W.: Anatomical distributions of four pharmacologically distinct H-L-glutamate binding sites.
Nature 306: 176-179 (1983)
- Nadler, J.V.; Perry, B.W.; Cotman, C.W.: Intraventricular kainic acid preferentially destroys hippocampal pyramidal cells.
Nature 271: 676-677 (1978)
- Nadler, J.V.; Evenson, D.A.; Smith, E.M.: Evidence from lesion studies for epileptogenic and non-epileptogenic neurotoxic interactions between kainic acid and excitatory innervation.
Brain Res. 205: 405-410 (1981)
- Nagy, Z.; Mathieson, G.; Hüttner, I.: Blood-brain barrier opening to horseradish peroxidase in acute arterial hypertension.
Acta Neuropathol. (Berl.) 48: 45-53 (1979)
- Niessing, K. & Rollhäuser, H.: Über den submikroskopischen Bau des Grundhäutchens der Hirnkapillaren.
Z. Zellforsch. 39: 431-446 (1954)
- Nistri, A.; MacDonald, J.F.; Barker, J.L.: Effects of ibotenic acid on amphibian and mammalian spinal neurones in vitro.
in: Di Chiara, G. & Gessa, G.L. (Eds.): Glutamate as a Neurotransmitter.
Raven Press (New York) S. 245-252 (1981)
- Nitsch, C. & Okada, Y.: Distribution of glutamate in layers of the rabbit hippocampal fields CA₁, CA₃, and the dentate area.
J. Neurosci. Res. 4: 161-167 (1979)
- Nitsch, C.: Ursachen und Folgen des regionalen Blut-Hirnschranken-Zusammenbruchs durch epileptiforme Krämpfe verschiedener Genese.
Habilitationsschrift, Ludwig-Maximilians-Universität München (1983a)

- Nitsch, C. & Klatzo, I.: Regional pattern of blood-brain barrier breakdown during epileptiform seizures induced by various convulsive agents.
J. Neurol. Sci. 59: 305-322 (1983b)
- Nitsch, C.; Suzuki, R.; Fujiwara, K.; Klatzo, I.: Incongruence of regional cerebral blood flow increase and blood-brain barrier opening in rabbits at the onset of seizures induced by bicuculline, methoxypyridoxine, and kainic acid.
J. Neurol. Sci. 67: 67-79 (1985)
- Nitsch, C.; Goping, G.; Laursen, H.; Klatzo, I.: The blood-brain barrier to horseradish peroxidase at the onset of bicuculline-induced seizures in hypothalamus, pallidum, hippocampus, and other selected regions of the rabbit.
Acta Neuropathol. (Berl.) 69: 1-16 (1986a)
- Nitsch, C.; Goping, G.; Klatzo, I.: Pathophysiological aspects of blood-brain barrier permeability in epileptic seizures.
in: Ben-Ari, Y. & Schwarcz (Eds.): Excitatory amino acids and seizure disorders.
Plenum, in press (1986b)
- Oldendorf, W.H.: Stereospecificity of blood-brain barrier permeability to amino acids.
Am. J. Physiol. 224: 967-969 (1973)
- Oldendorf, W.H. & Szabo, J.: Amino acid assignment to one of three blood-brain barrier amino acid carriers.
Am. J. Physiol. 230: 94-98 (1976)
- Olney, J.W.: Toxic effects of glutamate and related amino acids on the developing central nervous system.
in: Nyhan, W.L. (Ed.): Heritable disorders of amino acid metabolism.
John Wiley & Sons (New York), S.501-512 (1974)
- Pardridge, W.M.; Connor, J.D.; Crawford, I.L.: Permeability changes in the blood-brain barrier: Causes and consequences.
CRC Crit. Rev. Toxicol. 3: 159-199 (1975)

- Pellegrino, L.J.; Pellegrino, A.S.; Cushman, A.J.: A stereotactic atlas of the rat brain. Plenum Press (New York, Lond.), (1979)
- Pentschew, A. & Garro, F.: Lead encephalo-myelopathy of the suckling rat and its implications on the porphyrinopathic nervous diseases. Acta Neuropathol. (Berl.) 6: 266-278 (1966)
- Petito, C.K.; Schaefer, J.A.; Plum, F.: Ultrastructural characteristics of the brain and blood-brain barrier in experimental seizures Brain Res. 127: 251-267 (1977)
- Pinto da Silva, P. & Kachar, B.: On tight-junctions structure. Cell 28(3): 441-450 (1982)
- Rachmanow, A.: Intravitalfärbung der Zellen der vegetativen Hirnzentren. J. Neuropath. 18: 5-11 (1925)
- Rapoport, S.I.: Blood-brain barrier in physiology and medicine. Raven Press (New York) (1979)
- Ruth, R.E.: Increased cerebrovascular permeability to protein during systemic kainic acid seizures. Epilepsia 25: 259-268 (1984)
- Schmid, R.; Hong, J.S.; Meek, J.; Costa, E.: The effect of kainic acid on the hippocampal content of putative transmitter amino acids. Brain Res. 200: 355-362 (1980)
- Schwarcz, R.; Köhler, C.; Fuxe, K.; Hökfelt, T.; Goldstein, M.: On the mechanism of selective neuronal degeneration in the rat brain: Studies with ibotenic acid. in: Chase, T.N.; Wexler, N.; Barbeau, A. (Eds.): Huntington's chorea: 1972-1978. Advances in Neurology, Raven Press (New York) 23: 655-668 (1979a)

- Schwarcz, R.; Hökfelt, T.; Fuxe, K.; Jonsson, G.; Goldstein, M.; Terenius, L.: Ibotenic acid-induced neuronal degeneration: A morphological and neurochemical study.
Exp Brain Res. 37: 199-216 (1979b)
- Schwacz, R.; Collins, J.F.; Parks, D.A.: Alpha-amino-omega-phosphono carboxylates block ibotenate but not kainate neurotoxicity in rat hippocampus.
Neurosci. Lett. 33: 85-90 (1982)
- Schwob, J.E.; Fuller, T.; Price, J.L.; Olney, J.W.: Widespread patterns of neuronal damage following systemic or intracerebral injections of kainic acid: A histological study.
Neurosci. 5: 991-1014 (1980)
- Shinozaki, H. & Konishi, S.: Actions of several antihelmintics and insecticides on rat cortical neurons.
Brain Res. 24: 368-371 (1970)
- Simog, J.R.; Contrera, J.F.; Kuhar, M.J.: Binding of (³H)-kainic acid, and the analogue of L-glutamate, to brain membranes.
J. Neurochem. 26: 141-146 (1976)
- Singer, S.J. & Nicholson, G.L.: The fluid mosaic model of the structure of cell membranes.
Science 175: 720 (1972)
- Slaughter, M.M. & Miller, R.F.: 2-amino-4-phosphonobutyric acid: A new pharmacological tool for retina research.
Science 211: 182-185 (1981)
- Spatz, H.: Die Bedeutung der vitalen Färbung für die Lehre vom Stoffaustausch zwischen dem Zentralnervensystem und dem übrigen Körper.
Arch. Psychiat. Nervenkr. 101: 267-358 (1934)
- Sperk, G.; Lassmann, H.; Baran, H.; Kish, S.J.; Seitelberger, F.; Hornykiewicz, O.: Kainic acid induced seizures: Neurochemical and histopathological changes.
Neurosci. 10.4: 1301-1315 (1983)

- Stein, W.D.: The movement of molecules across the cell membranes.
Academic Press (New York), (1967)
- Steinwall, O. & Klatzo, I.: Selective vulnerability of the blood-brain barrier in chemically induced lesions.
J. Neuropath. exp. Neurol. 25: 542-559 (1966)
- Storm-Mathisen, J.; Lekaes, A.K.; Bore, A.T.; Vaaland, J.L.; Edminson, P.; Haug, F-M.S.; Ottersen, O.P.: First visualisation of glutamate and Gaba in neurones by immunochemistry.
Nature 301: 517-520 (1983)
- Strandgaard, S.; Jones, J.V.; MacKenzie, E.T.; Harper, A.M.: Upper limit of cerebral blood flow autoregulation in experimental renovascular hypertension in the baboon.
Circulation Res. 37: 164-167 (1975)
- Suzuki, R.; Nitsch, C.; Fujiwara, K.; Klatzo, I.: Regional changes in cerebral blood flow and blood-brain barrier permeability during epileptiform seizures and in acute hypertension in rabbits.
Cerebral Blood Flow Metab. 4: 96-102 (1984)
- Sztriha, L.; Joó, F.; Szerdahelyi, P.; Lelkes, Z.; Adam, G.: Kainic acid neurotoxicity: Characterisation of blood-brain barrier damage.
Neurosci. Lett. 55: (1985)
- Takemoto, T.: Isolation and structural identification of naturally occurring excitatory amino acids.
in: McGeer, E.G.; Olney, J.W.; McGeer, P.L. (Eds.): Kainic acid as a tool in neurobiology.
Raven Press (New York) S.1-10 (1978)
- Tamura, S.: Pharmacological studies on the principles of diagenia simplex.
Ag. J. Pharm. Soc. Jap. 74: 1290-1293 (1954)
- Ueno, Y.; Nawa, H.; Ueyanagi, J.; Morimoto, H.; Nakamori, R.; Matsuoaka, T.: Studies on the active components of diagenia simplex ag and related compounds.
J. Pharm. Soc. Jpn. 75: 807-811 (1955)

- Unterberg, A.; Wahl, M.; Baethmann, A.: Effects of bradykinin on permeability and diameter of pial vessels in vivo.
J. cerebral blood flow metabol. 4/4: 574-585 (1984)
- Watkins, J.C. & Evans, R.H.: Excitatory amino acid transmitters.
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 21: 165-204 (1981)
- Westergaard, E. & Brightman, M.W.: Transport of proteins across normal cerebral arterioles.
J. Comp. Neurol. 152: 17-44 (1973)
- Westergaard, E.; Go, K.-G.; Klatzo, I.; Spatz, M.: Increased permeability of cerebral vessels to horseradish peroxidase induced by ischemia in Mongolian gerbils.
Acta Neuropathol. (Berl.) 35: 307-325 (1976)
- Westergaard, E.; van Deurs, B.; Brondsted, H.E.: Increased transfer of horseradish peroxidase across cerebral endothelium, evoked by acute hypertension.
Acta Neuropathol. (Berl.) 37: 141-152 (1977)
- Westergaard, E.; Hertz, M.M.; Bolwig, T.G.: Increased permeability to horseradish peroxidase across cerebral vessels, evoked by electrically induced seizures in the rat.
Acta Neuropathol. (Berl.) 41: 73-80 (1978)
- Westergaard, E.: Ultrastructural permeability properties of cerebral microvasculature under normal and experimental conditions after application of tracers.
Adv. Neurol. 28: 55-74 (1980)
- Wolff, J.: Beiträge zur Ultrastruktur der Kapillaren in der normalen Großhirnrinde.
Z. Zellforsch. 60: 409-431 (1963)
- Wolman, M.; Klatzo, I.; Chui, E.; Wilmes, F.; Nishimoto, K.; Fujiwara, K.; Spatz, M.: Evaluation of the dye-protein tracers in pathophysiology of the blood-brain barrier.
Acta Neuropathol. (Berl.) 54: 55-61 (1961)

Zaczek, R. & Coyle, J.T.: Excitatory amino acid analogues: Neurotoxicity and seizures. *Neuropharmacology* 21: 15-26

Zand, N.: Les plexus choriodes
Masson et Cie. (Paris), (1930)

Zucker, D.K.; Wooten, G.F.; Lothman, E.W.: Blood-brain barrier changes with kainic acid-induced seizures. *Exp. Neurology* 79: 422-433 (1983)

LEBENS LAUF

Am 1. Februar 1960 wurde ich, Heinrich Hubauer, in Straubing als Sohn von Heinrich Hubauer, Leitender Kaufmännischer Angestellter und seiner Ehefrau Kunigunde, Hausfrau, geboren.

Von 1966 bis 1970 besuchte ich die damalige Knabenschule meines Wohnortes Plattling, ehe ich in das Robert-Koch-Gymnasium Deggendorf überwechselte, wo ich im Jahre 1980 mein Abitur erlangte.

Im Juli des selben Jahres wurde ich zum Wehrdienst nach Regensburg in das dortige Sanitätsbataillon einberufen, um nach 4 Monaten für mein Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität vorläufig entlassen zu werden. Im August 1982 absolvierte ich mein Physikum, ein Jahr später mein I. Staatsexamen.

Während des Wintersemesters 1983/84 war ich als Hilfslehrer für den studentischen Präparierkurs am Anatomischen Institut München tätig.

Im Frühjahr des Jahres 1984 begann ich mit den Experimenten der vorliegenden Dissertation.

Mein II. Staatsexamen erwarb ich im Sommer 1985.

Die Ausbildung im "Praktischen Jahr" verbrachte ich im Fach Innere Medizin auf der II. Medizinischen Abteilung des Klinikums Großhadern, im Fach Chirurgie im Städtischen Krankenhaus Landshut.

Zur Zeit arbeite ich im letzten Tertial des "Praktischen Jahres" in der Radiologie des Klinikums Großhadern.

Im Herbst 1986 beabsichtige ich mein Studium abzuschließen.

München, im August 1986

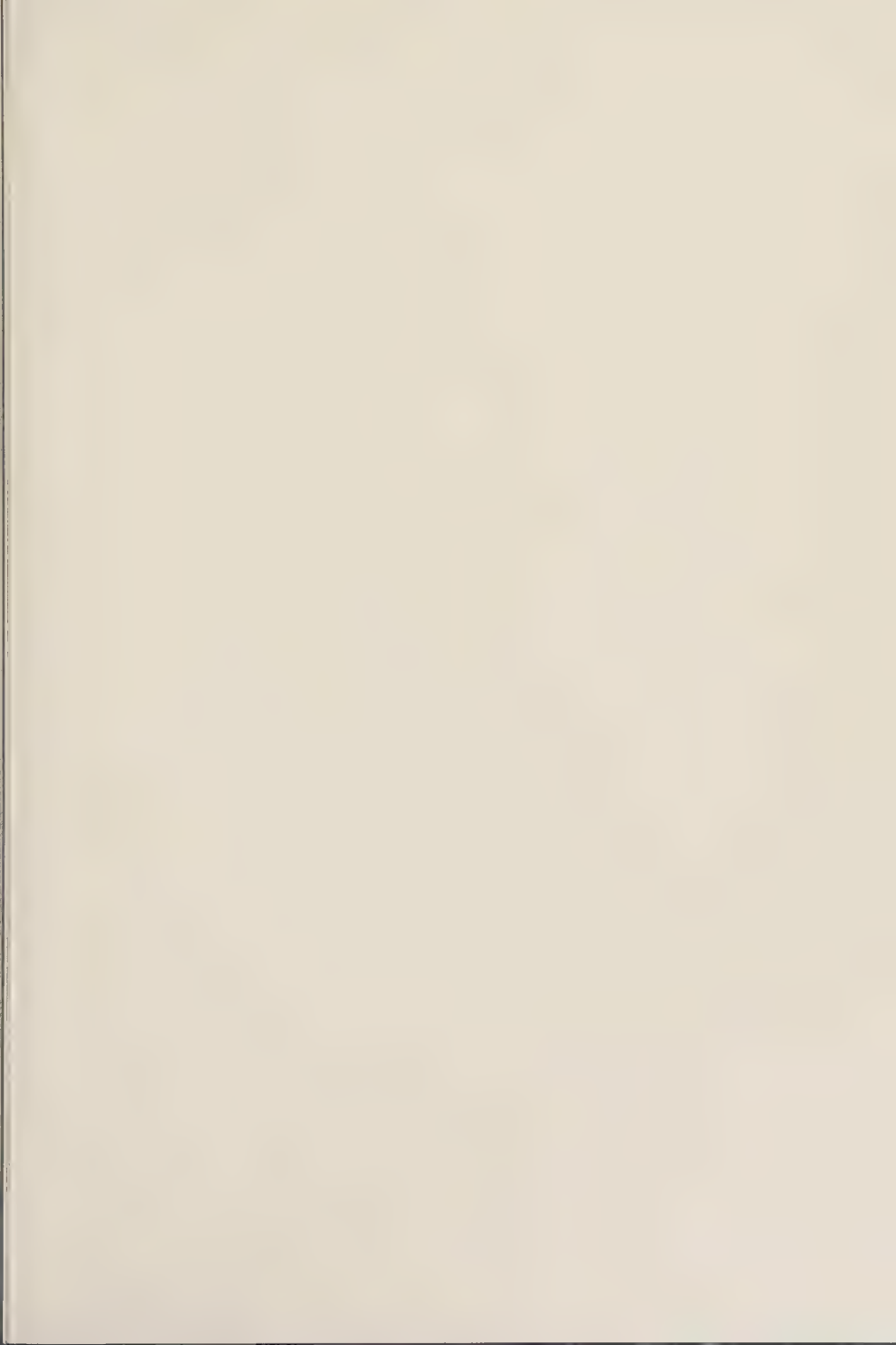
Nachtrag

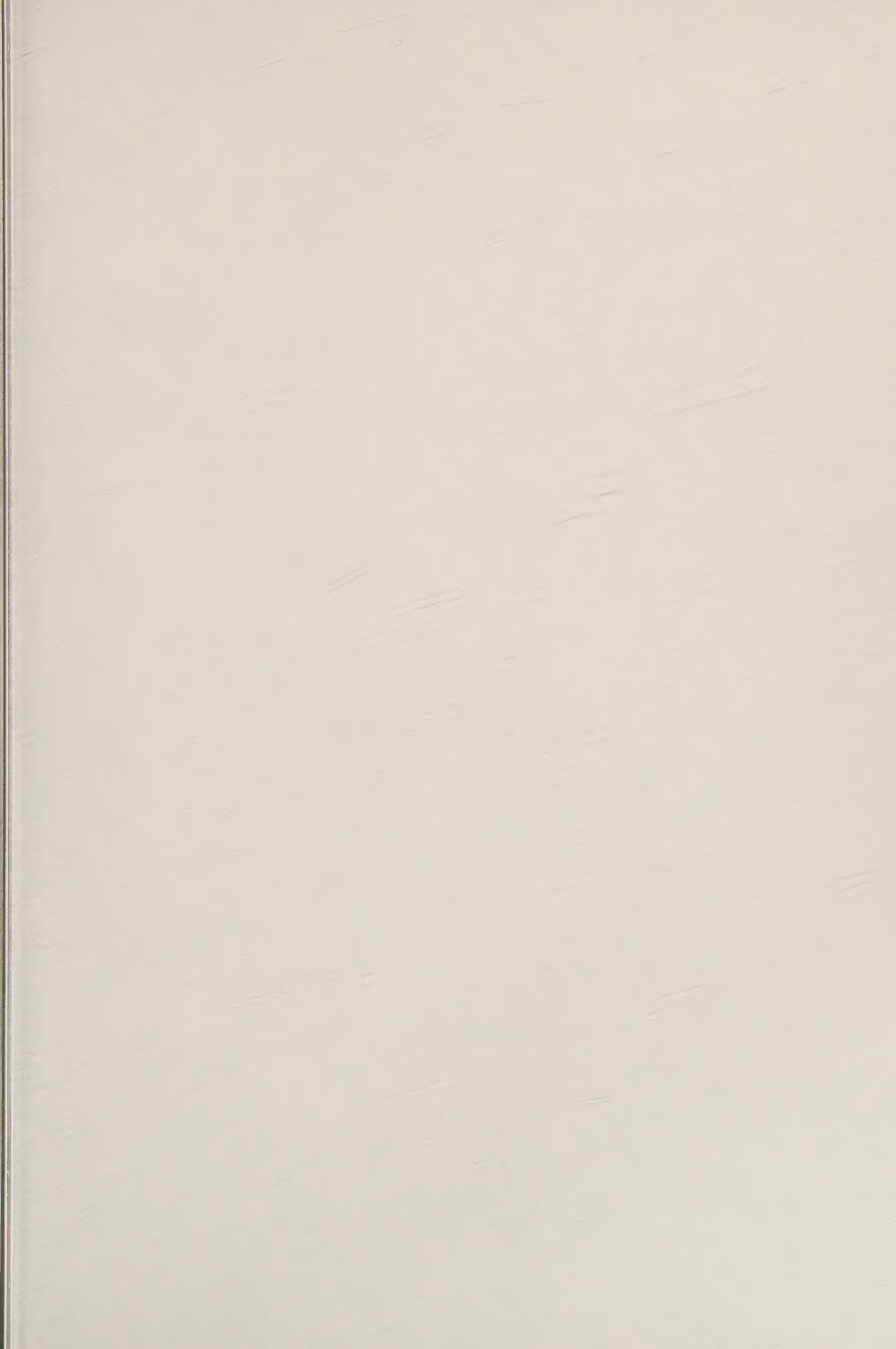
Im November 1986 absolvierte ich mein III. Staatsexamen.

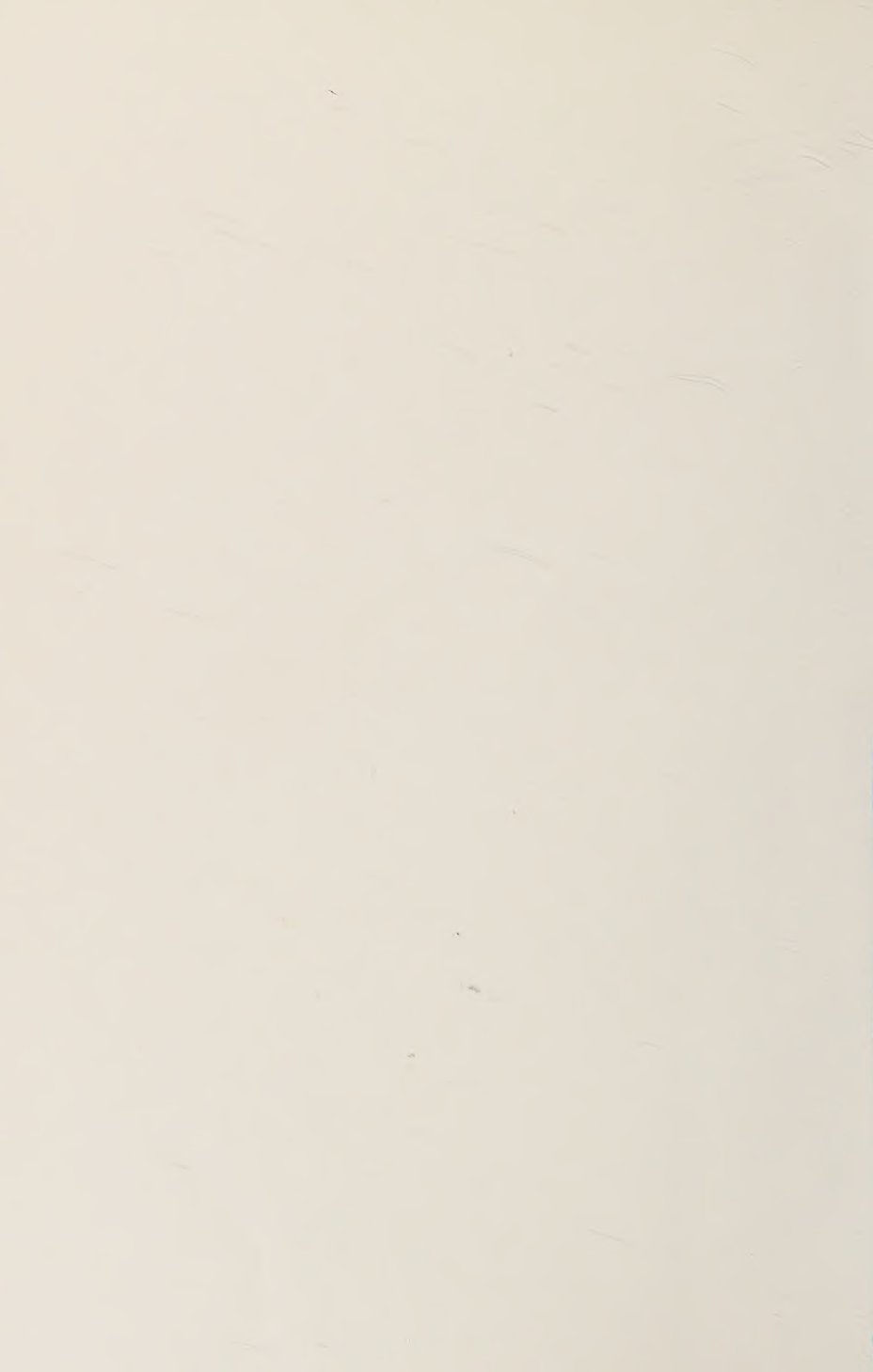
Im selben Monat wurde ich als Arzt approbiert.

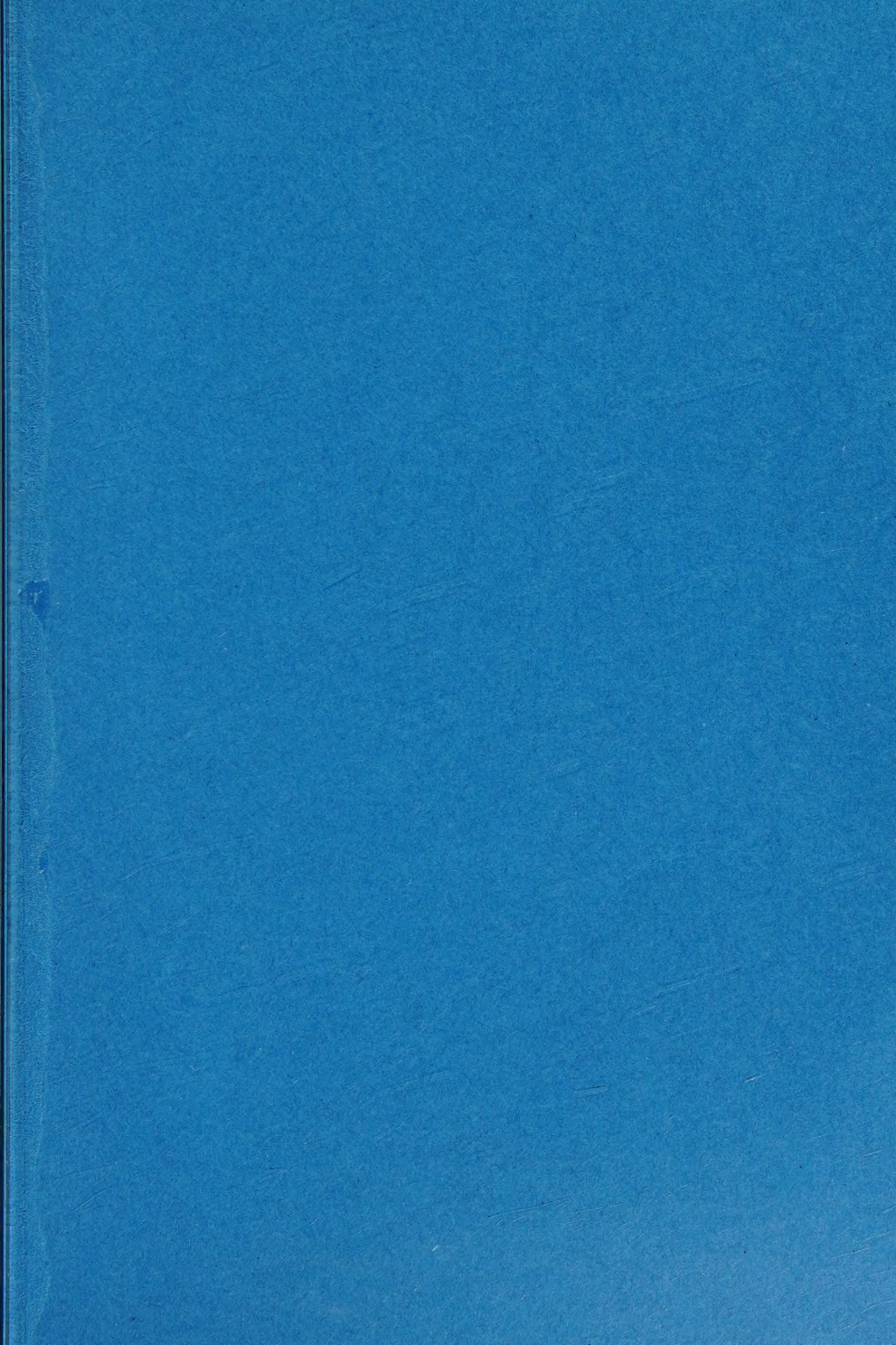
Seit Januar 1987 arbeite ich als Assistenzarzt in der Abteilung für Röntgendiagnostik des Krankenhauses der Barmherzigen Brüder in Regensburg.

Regensburg, im Oktober 1987









KOPIER ECK
REPROGRAPHISCHE BETRIEBE
REGENSBURG